

TẠP CHÍ

p-ISSN 3093 - 3382
e-ISSN 3093 - 3153

Nông nghiệp & Môi trường

SCIENCE JOURNAL OF AGRICULTURE AND ENVIRONMENT
TẠP CHÍ KHOA HỌC CỦA BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ MÔI TRƯỜNG

Số đặc biệt

CHẾ BIẾN

NÔNG LÂM THỦY SẢN

Tháng 8
2025

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Editorial Committee

1. CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG:

PHÙNG ĐỨC TIẾN

2. PHÓ CHỦ TỊCH KIÊM TỔNG THƯ KÝ HỘI ĐỒNG:

NGUYỄN THỊ THANH THỦY

3. CÁC ỦY VIÊN:

NGUYỄN HỮU NINH

Vụ Khoa học, Công nghệ và Môi trường

TRẦN ĐÌNH LUÂN

Cục Thủy sản

VÕ ĐẠI HẢI

Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TRẦN ĐÌNH HÒA

Viện Khoa học Thủy lợi Việt Nam

PHẠM VĂN TOÀN

Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

PHẠM ANH TUẤN

*Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ
sau thu hoạch*

TRẦN CÔNG THẮNG

*Viện Chính sách và
Chiến lược phát triển nông nghiệp nông thôn*

PHẠM DOÃN LÂN

Viện Chăn nuôi

TRỊNH MINH THỤY

Trường Đại học Thủy lợi

PHẠM VĂN ĐIỀN

Trường Đại học Lâm nghiệp

PHẠM VĂN CƯỜNG

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

LÊ ANH TUẤN

Đại học Bách Khoa Hà Nội

TRẦN ĐĂNG HÒA

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

NGUYỄN THANH PHƯƠNG

Trường Đại học Cần Thơ

BÙI HUY HIỀN

Hội Khoa học Đất Việt Nam

NGÔ XUÂN BÌNH

*Ban Chủ nhiệm Chương trình công nghệ
sinh học, Bộ Khoa học và Công nghệ*

LÊ MẠNH HÙNG

*Hội Khoa học và Kỹ thuật Thủy lợi
thành phố Hồ Chí Minh*

NGUYỄN VĂN CẨM

Hội Thú y Việt Nam

BÙI CHÍ BỬU

*Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền
Nam, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*

TRẦN VĂN CHỨ

Trường Đại học Lâm nghiệp

PHẠM QUANG THU

*Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng,
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*

NGUYỄN DUY HOAN

*Trường Đại học Nông Lâm,
Đại học Thái Nguyên*

NGUYỄN VĂN THANH

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

LÊ ĐỨC NGOAN

Hiệp hội thức ăn chăn nuôi Việt Nam

ĐỖ KIM CHUNG

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& MÔI TRƯỜNG**

p-ISSN 3093-3382
e-ISSN 3093-3153

NĂM THỨ HAI MƯƠI LĂM

**SỐ ĐẶC BIỆT
CHẾ BIẾN NÔNG LÂM THỦY SẢN**

Tháng 8/2025

**TỔNG BIÊN TẬP
TS. ĐÀO XUÂN HÙNG
ĐT: 024.37711070**

**PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ThS. KIỀU ĐĂNG TUYẾT**

ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Phường Giảng Võ - TP. Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinmnt@mae.gov.vn
http://tapchikhoahoc.nnmt.net.vn

Giấy phép số:
23/GP - BVHTTDL
Bộ Văn hoá, Thể thao và Du lịch
cấp ngày 25 tháng 4 năm 2025

**Chế bản tại Tạp chí
Nông nghiệp và Môi trường
In tại Công ty TNHH Sản xuất
Thương mại Hưng Hà**

**Đơn vị phát hành: Công ty
Phát hành báo chí Trung ương
ĐT: 0913023486**

MỤC LỤC

- | | |
|--|---------|
| ❑ PHẠM ANH TUẤN, NGUYỄN THỊ MINH NGUYỆT, LÊ ĐỨC THÔNG.
Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng trong quá trình cấp đông nhanh bằng chất tải lạnh lỏng | 5-14 |
| ❑ PHẠM CAO THẮNG, PHẠM ANH TUẤN, NGUYỄN DUY LÂM.
Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình hấp nhiệt - làm nguội theo chu kỳ kết hợp tiên xử lý bằng enzyme pullulanase đến hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa (RS3) từ bột gạo | 15-22 |
| ❑ TRẦN THỊ THU HOÀI, PHẠM ANH TUẤN, NGUYỄN QUANG ĐỨC.
Nghiên cứu xử lý bã ép nước chuối để sản xuất bột giàu chất xơ hòa tan ứng dụng trong chế biến thực phẩm | 23-31 |
| ❑ BÙI KIM THÚY, PHẠM THỊ MAI, LÊ THỊ THANH THỦY, PHẠM MINH TUẤN, NGUYỄN DUY LÂM. Nghiên cứu tách chiết dầu và hợp chất giàu piceatannol từ hạt chanh leo tím (<i>Passiflora edulis</i> Sims.) | 32-41 |
| ❑ NGUYỄN THỊ HỒNG HÀ, NGUYỄN THỊ HƯƠNG TRÀ, LÊ THỊ TRANG, NGUYỄN NGỌC HUYỀN, NGUYỄN TUẤN, VŨ THU DIỄM, NGUYỄN ĐÌNH MẠNH. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến khả năng phân hủy hữu cơ trong lên men bã dong riềng làm phân bón hữu cơ bằng chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP | 42-51 |
| ❑ NGUYỄN VĂN NGUYỄN, LÊ THỊ TRANG, VŨ THU DIỄM. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm giàu enzyme lipase chịu nhiệt từ chủng <i>Bacillus</i> sp. bằng lên men bề mặt | 52-59 |
| ❑ NGUYỄN TẤT THẮNG, LÊ THU HẰNG, NGUYỄN TIẾN NAM, VŨ THỊ NHỊ, CHU LÊ TRANG. Ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ trong chế biến đến chất lượng chè matcha | 60-71 |
| ❑ BÙI THỊ HƯƠNG QUỲNH, HOÀNG HƯƠNG NGỌC, BÙI THỊ ÁNH NGUYỆT, HOÀNG NGỌC DŨNG, TRẦN THỊ NGỌC ANH, LÊ THỊ TRANG, LÊ THỊ VÂN THANH, NGUYỄN THỊ HƯƠNG TRÀ, NGUYỄN THỊ THU HUYỀN, VŨ THU DIỄM, BÙI THỊ HƯƠNG. Nghiên cứu công nghệ sản xuất cao chiết giàu hoạt chất adenosin, cordycepin và polysaccharides từ nấm đông trùng hạ thảo bằng thủy phân enzyme kết hợp siêu âm, quy mô phòng thí nghiệm | 72-83 |
| ❑ TRẦN XUÂN HIỂN, LÊ THỊ THÚY HẰNG, NGUYỄN TẤN HÙNG. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng trong quá trình trích ly polyphenol và khả năng khử gốc tự do từ lá xoài ba màu | 84-92 |
| ❑ NGUYỄN HỒNG XUÂN, NGUYỄN THỊ KIỀU DIỄM, TRẦN BẠCH LONG, NGUYỄN TRỌNG NGŨ. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy bằng phương pháp sấy nhiệt đến chất lượng sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn | 93-101 |
| ❑ BÙI THỊ BÍCH NGỌC, BÙI QUANG THUẬT. Nghiên cứu thu nhận cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế, ứng dụng cho sản xuất sản phẩm hương liệu khử mùi | 102-114 |
| ❑ BÙI QUANG THUẬT, ĐẶNG THỊ THANH QUYÊN, ĐỖ THỊ KIM LOAN, BÙI THỊ BÍCH NGỌC. Nghiên cứu chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng (<i>Pyrenaria jongquieriana</i> P.) cho sản xuất đồ uống hòa tan | 115-128 |

TẠP CHÍ

NÔNG NGHIỆP & MÔI TRƯỜNG

**p-ISSN 3093-3382
e-ISSN 3093-3153**

NĂM THỨ HAI MƯƠI LĂM

**SỐ ĐẶC BIỆT
CHẾ BIẾN NÔNG LÂM THỦY SẢN**

Tháng 8/2025

**TỔNG BIÊN TẬP
TS. ĐÀO XUÂN HƯNG
ĐT: 024.37711070**

**PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ThS. KIỀU ĐĂNG TUYẾT**

ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Phường Giảng Võ - TP. Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinmt@mae.gov.vn
<http://tapchikhoahoc.nnmt.net.vn>

Giấy phép số:
23/GP - BVHTTDL
Bộ Văn hoá, Thể thao và Du lịch
cấp ngày 25 tháng 4 năm 2025

**Chế bản tại Tạp chí
Nông nghiệp và Môi trường
In tại Công ty TNHH Sản xuất
Thương mại Hưng Hà**

**Đơn vị phát hành: Công ty
Phát hành báo chí Trung ương
ĐT: 0913023486**

MỤC LỤC

- | | |
|--|---------|
| ❑ ĐẶNG HỒNG ÁNH, NGUYỄN THU VÂN, GIANG THẾ VIỆT, PHẠM NGỌC THÁI, TRẦN BẢO TRÂM. Nghiên cứu sản xuất bột dinh dưỡng ăn liền từ hạt tam giác mạch thu hoạch tại tỉnh Hà Giang | 129-138 |
| ❑ ĐỖ THỊ THỦY LÊ, TRẦN HOÀNG QUYÊN, BÙI THỊ HỒNG PHƯƠNG, BÙI THỊ THÚY HÀ, ĐỖ ĐÌNH HẢI, NGUYỄN MINH CHÂU, LÊ VĂN BẮC, PHẠM LINH KHOA. Nghiên cứu một số phương pháp làm giàu peptide chức năng từ dịch thủy phân vi tảo | 139-147 |
| ❑ ĐỖ TRỌNG HÙNG, NGUYỄN THÙY LINH, NGUYỄN HOÀNG PHI, LƯƠNG THỊ NHƯ HOA. Nghiên cứu điều kiện thủy phân tinh bột gạo thành maltodextrin bằng α -amylase HT-800 | 148-153 |
| ❑ LƯƠNG HÙNG TIẾN, PHẠM THỊ HÀ, TRẦN THỊ HẰNG, HỒ PHÚ HÀ. Nghiên cứu một số thông số công nghệ sản xuất nước ép bưởi diến đóng chai | 154-163 |
| ❑ PHẠM VĂN THÊM, VÕ KHÁNH HÙNG, DƯƠNG THỊ PHƯƠNG LIÊN. Ứng dụng protease trong trích tinh bột hạt quả xoài (<i>Mangifera indica</i> L.) | 164-173 |
| ❑ NGUYỄN QUỲNH NHƯ, NGUYỄN PHỤNG TIỀN, NGUYỄN VĂN MƯỜI, TRẦN HỒNG QUÂN. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến các tính chất hóa lý của cá lóc fillet | 174-180 |
| ❑ TRƯƠNG THỊ MỘNG THU, LÊ THỊ MINH THỦY, TRẦN THANH TRÚC. Nghiên cứu kỹ thuật rào cản trong sản xuất sản phẩm tôm khô thể chân trắng (<i>Litopenaeus vannamei</i>) xẻ bướm | 181-190 |
| ❑ NGUYỄN HẢI VÂN, PHYO EI EI KYAW, NGUYỄN THỊ PHƯƠNG THẢO, PHAN THANH TÂM. Nghiên cứu công nghệ sản xuất canxi xitrat có độ tinh khiết cao từ vỏ trứng gia cầm | 191-200 |
| ❑ TRƯƠNG THỊ MỘNG THU, LÊ THỊ MINH THỦY. Nghiên cứu công nghệ sản xuất nước ép hỗn hợp ổi (<i>Psidium guajava</i> L.) - khóm (<i>Ananas comosus</i>) thanh trùng bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) | 201-211 |
| ❑ BÙI THỊ THU UYÊN, NGUYỄN THỊ PHƯƠNG DUNG, NGUYỄN THỊ NGOAN, BÁ THỊ DƯƠNG, NGUYỄN THỊ LIỄU, LƯU NGỌC SINH, ĐỖ THỊ CẨM VÂN, TRẦN ĐĂNG THUẦN. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố hóa lý đến hiệu suất chiết và độ tinh khiết phycocyanin trong sinh khối <i>Spirulina</i> SP2 và <i>Spirulina</i> SP4 | 212-219 |
| ❑ ĐẶNG XUÂN ĐÀO, TRẦN HOÀNG ÁI, TRẦN NGỌC ĐIỆP, NGUYỄN NGỌC NHI, NGUYỄN NGỌC QUÝ. Nghiên cứu quy trình công nghệ sản xuất nước cốt chanh dây mật ong (<i>Passiflora edulis</i>) | 220-227 |
| ❑ NGUYỄN ĐỨC TIẾN, NGUYỄN THỊ HUỖN. Tác động của sóng siêu âm đến quá trình lên men đồ uống probiotic từ quả ổi Đông Du | 228-240 |

**VIETNAM JOURNAL OF
AGRICULTURE AND
ENVIRONMENT**

**p-ISSN 3093-3382
e-ISSN 3093-3153**

**SPECIAL ISSUE
PROCESSING OF AGRICULTURAL,
FORESTRY AND FISHERY PRODUCTS**

August - 2025

**Editor-in-Chief
Dr. DAO XUAN HUNG**
Tel: 024.37711070

**Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
MS. KIEU DANG TUYET**
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Giangvo - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinnmt@mae.gov.vn
<http://tapchikhoahoc.nnmt.net.vn>

License No.23/GP - BVHTTDL
issued by the Ministry of Culture,
Sports and Tourism on April 25, 2025

Printing in Hung Ha trading
production company Limited

CONTENTS

- | | |
|---|---------|
| ❑ PHAM ANH TUAN, NGUYEN THI MINH NGUYET, LE DUC THONG. Research on factors affecting the quality of whiteleg shrimp products during rapid freezing using liquid coolant | 5-14 |
| ❑ PHAM CAO THANG, PHAM ANH TUAN, NGUYEN DUY LAM. Study on the effect of cyclic heat-cooling process combined with pullulanase enzyme pretreatment on the resistant starch (RS3 sort)) content from rice flour | 15-22 |
| ❑ TRAN THI THU HOAI, PHAM ANH TUAN, NGUYEN QUANG DUC. Study on processing of pressed banana pulp for producing soluble fiber-rich powder applied in food processing | 23-31 |
| ❑ BUI KIM THUY, PHAM THI MAI, LE THI THANH THUY, PHAM MINH TUAN, NGUYEN DUY LAM. Study on extraction of oil and piceatannol-rich compound from purple passion fruit seed (<i>Passiflora edulis</i> Sims.) | 32-41 |
| ❑ NGUYEN THI HONG HA, NGUYEN THI HUONG TRA, LE THI TRANG, NGUYEN NGOC HUYEN, NGUYEN TUAN, VU THU DIEM, NGUYEN DINH MANH. Study on the effect of technological factors on the degradation of organic matter in <i>Canna edulis</i> Ker. residue using the PBDR5-VIAEP microbial formulation for organic fertilizer production | 42-51 |
| ❑ NGUYEN VAN NGUYEN, LE THI TRANG, VU THU DIEM. Research on production of heat-resistant lipase enzyme preparation from <i>Bacillus</i> sp. strain by solid state fermentation | 52-59 |
| ❑ NGUYEN TAT THANG, LE THU HANG, NGUYEN TIEN NAM, VU THI NHI, CHU LE TRANG. Impact of some technological factors in processing on the quality of matcha tea | 60-71 |
| ❑ BUI THI HUONG QUYNH, HOANG HUONG NGOC, BUI THI ANH NGUYET, HOANG NGOC DUNG, TRAN THI NGOC ANH, LE THI TRANG, LE THI VAN THANH, NGUYEN THI HUONG TRA, NGUYEN THI THU HUYEN, VU THU DIEM, BUI THI HUONG. Study on technological production of extracts rich in adenosine cordycepin and polysaccharides from <i>Cordyceps militaris</i> by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis at laboratory scale | 72-83 |
| ❑ TRAN XUAN HIEN, LE THI THUY HANG, NGUYEN TAN HUNG. Study on effects of some factors in polyphenol extraction process and ability of deoxidized free radical of Ba Mau mango leaves | 84-92 |
| ❑ NGUYEN HONG XUAN, NGUYEN THI KIEU DIEM, TRAN BACH LONG, NGUYEN TRONG NGU. Study on the effects of temperature and drying time in thermal drying on the quality of crispy spiced dried duck meat | 93-101 |
| ❑ BUI THI BICH NGOC, BUI QUANG THUAT. Research on obtaining extract rich in bioactive substances from cinnamon bark, application for producing deodorant flavoring products | 102-114 |
| ❑ BUI QUANG THUAT, DANG THI THANH QUYEN, DO THI KIM LOAN, BUI THI BICH NGOC. Study on saponins extracting and natural active substances from Thach Chau golden tea leaves (<i>Pyrenaria jongquieriana</i> P.) for instant beverage production | 115-128 |

**VIETNAM JOURNAL OF
AGRICULTURE AND
ENVIRONMENT**

**p-ISSN 3093-3382
e-ISSN 3093-3153**

**SPECIAL ISSUE
PROCESSING OF AGRICULTURAL,
FORESTRY AND FISHERY PRODUCTS**

August - 2025

**Editor-in-Chief
Dr. DAO XUAN HUNG**
Tel: 024.37711070

**Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
MS. KIEU DANG TUYET**
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Giang Vo - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinnmt@mae.gov.vn
<http://tapchikhoahoc.nnmt.net.vn>

License No.23/GP - BVHTTDL issued
by the Ministry of Culture, Sports and
Tourism on April 25, 2025

Printing in Hung Ha trading
production company Limited

CONTENTS

- ❑ DANG HONG ANH, NGUYEN THU VAN, GIANG THE VIET, PHAM NGOC THAI, TRAN BAO TRAM. Study on the production of instant nutritional powder from buckwheat harvested in Ha Giang province 129-138
- ❑ DO THI THUY LE, TRAN HOANG QUYEN, BUI THI HONG PHUONG, BUI THI THUY HA, DO DINH HAI, NGUYEN MINH CHAU, LE VAN BAC, PHAM LINH KHOA. Study on several methods to enrich bioactive peptides from microalgal hydrolysate broth 139-147
- ❑ DO TRONG HUNG, NGUYEN THUY LINH, NGUYEN HOANG PHI, LUONG THI NHU HOA. Research on conditions of rice starch hydrolysis into maltodextrin by α -amylase HT-800 148-153
- ❑ LUONG HUNG TIEN, PHAM THI HA, TRAN THI HANG, HO PHU HA. Study on technological parameters for producing canned juice from Dien pomelo (*Citrus grandis*) 154-163
- ❑ PHAM VAN THEM, VO KHANH HUNG, DUONG THI PHUONG LIEN. Application of protease in mango seed (*Mangifera indica* L.) starch extraction 164-173
- ❑ NGUYEN QUYNH NHU, NGUYEN PHUNG TIEN, NGUYEN VAN MUOI, TRAN HONG QUAN. Effect of partial replacement of NaCl by KCl on physicochemical properties of snakehead fillet 174-180
- ❑ TRUONG THI MONG THU, LE THI MINH THUY, TRAN THANH TRUC. Study on hurdle technic in processing dried butterfly shrimp (*Litopenaeus vannamei*) 181-190
- ❑ NGUYEN HAI VAN, PHYO EI EI KYAW, NGUYEN THI PHUONG THAO, PHAN THANH TAM. Research on high-purity calcium citrate production technology from poultry eggshells 191-200
- ❑ TRUONG THI MONG THU, LE THI MINH THUY. Study on hurdle technic Research on the production of guava (*Psidium guajava* L.) pineapple (*Ananas comosus*) pasteurized mixed juice with hydrolyzed collagen supplement from pangasian fish (*Pangasianodon hypophthalmus*) skin 201-211
- ❑ BUI THI THU UYEN, NGUYEN THI PHUONG DUNG, NGUYEN THI NGOAN, BA THI DUONG, NGUYEN THI LIEU, LUU NGOC SINH, DO THI CAM VAN, TRAN DANG THUAN. Research on the effect of physicochemical factors on the extraction efficiency and purity of phycocyanin in *Spirulina* SP2 and *Spirulina* SP4 biomass 212-219
- ❑ DANG XUAN DAO, TRAN HOANG AI, TRAN NGOC DIEP, NGUYEN NGOC NHI, NGUYEN NGOC QUI. Research on the technological process of producing honey passion fruit juice (*Passiflora edulis*) 220-227
- ❑ NGUYEN DUC TIEN, NGUYEN THI HUYEN. Effect of ultrasound on the fermentation process of probiotic beverage from Dong Du guava fruit 228-240

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM TÔM THẺ CHÂN TRẮNG TRONG QUÁ TRÌNH CẤP ĐÔNG NHANH BẰNG CHẤT TẢI LẠNH LỎNG

Phạm Anh Tuấn^{1, *}, Nguyễn Thị Minh Nguyệt¹, Lê Đức Thông¹

¹ Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

* Email: phamtuanvcd@gmail.com

TÓM TẮT

Mục đích nghiên cứu này là thực nghiệm xác định một số thông số cấp đông bằng chất tải lạnh lỏng với nguyên liệu là tôm thẻ chân trắng. Các thông số chính và khoảng khảo sát gồm: Độ dày nguyên liệu ($10 \div 25$ mm), nhiệt độ chất tải lạnh lỏng ($-25 \div -35^\circ\text{C}$), vận tốc đối lưu ($0,4 \div 0,6$ m/s) với cùng quy cách bao gói bằng vật liệu PA độ dày 100 μm . Mục tiêu thực nghiệm đánh giá chất lượng tôm thẻ chân trắng sau rã đông với các chỉ tiêu: Thời gian cấp đông (phút), tỷ lệ tách nước sau rã đông (%), cảm quan QIM (điểm), màu sắc (ΔE) kết hợp phân tích hình ảnh cấu trúc mô tế bào của sản phẩm cấp đông. Kết quả đã xác định được các thông số công nghệ cấp đông tôm thẻ chân trắng bằng chất tải lạnh lỏng với nhiệt độ -35°C , độ dày lớp nguyên liệu 10 ± 1 mm, vận tốc đối lưu 0,5 m/s tương ứng thời gian cấp đông 12,6 phút cho chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng tốt nhất với cảm quan QIM đạt 1 điểm xếp loại rất tốt, tỷ lệ tách nước 3,8% và màu sắc ΔE 5,39.

Từ khóa: *Tôm thẻ chân trắng, cấp đông nhanh, chất tải lạnh lỏng, chất lượng, cấu trúc.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) một trong những loài thủy sản có giá trị kinh tế cao, chiếm hơn 70% tổng sản lượng tôm nuôi Việt Nam là mặt hàng xuất khẩu chủ lực sang các thị trường Mỹ, EU, Nhật Bản, Trung Quốc. Tôm là sản phẩm có hàm lượng protein và nước cao, có chứa các enzyme, vi sinh vật nội sinh nên dễ bị hư hỏng và thời hạn sử dụng ngắn [1]. Trong quá trình bảo quản tôm thường xuất hiện các đốm đen và thịt mềm là các đặc điểm về chất lượng cảm quan, sinh hóa có ảnh hưởng đến độ tươi của sản phẩm [2]. Sự biến đổi màu sắc của tôm từ xám nhạt sang đỏ hoặc đen, đặc biệt là ở phần đầu và đuôi, do sự hình thành sắc tố melanin có liên quan đến hoạt động của enzyme tyrosinase và sự phân hủy hemocyanin [3].

Cấp đông nhanh là công nghệ được sử dụng phổ biến trong chế biến thủy sản đông lạnh có thể ngăn chặn sự hư hỏng do enzyme và vi sinh vật nội sinh gây ra, giữ được cấu trúc, thành phần dinh

dưỡng và hương vị tự nhiên. Có nhiều phương pháp cấp đông nhanh trên nguyên tắc làm lạnh sản phẩm xuống đến -18°C (tâm sản phẩm) càng nhanh càng tốt và là công đoạn có tính quyết định đến chất lượng của sản phẩm trong quá trình bảo quản. Tốc độ cấp đông phụ thuộc vào phương pháp và các thông số công nghệ cấp đông. Phương pháp cấp đông có hệ số truyền nhiệt cao giúp tốc độ cấp đông nhanh sẽ tạo ra các mầm tinh thể đá nhỏ và đồng nhất, số lượng và kích thước của tinh thể đá được xem là một tham số quan trọng để đánh giá sự thay đổi chất lượng của sản phẩm đông lạnh đặc biệt là cấu trúc sản phẩm sau khi rã đông. Ngược lại, cấp đông chậm các phân tử nước bị dồn nén vào tâm, hình thành các tinh thể đá lớn hình kim gây tổn thương đến cấu trúc tế bào [4, 5]. Khi rã đông, dịch bào thoát ra tạo nên hiện tượng chảy nước dẫn đến sản phẩm không giữ được trạng thái cấu trúc ban đầu, mất khác do cấu trúc bị phá vỡ làm giảm chất lượng sản phẩm và tạo môi trường thuận lợi cho vi sinh vật xâm nhập, gây hư hỏng nhanh chóng [6].

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ cấp đông bằng nitơ lỏng (LNF) trong khoảng - 35°C, - 65°C, - 95°C và - 125°C đến tính thể băng và chất lượng cơ của tôm thẻ chân trắng cho thấy, chất lượng cơ tốt hơn được duy trì sau khi xử lý bằng LNF so với cấp đông bằng không khí lạnh cưỡng bức (ABF). Đồng thời, LNF ở - 95°C dẫn đến khả năng giữ nước và giá trị độ cứng cao hơn so với ABF ($p < 0,05$). Vi cấu trúc của tôm cấp đông bằng LNF (- 95°C) nhỏ hơn và giá trị L^* cao nhất cho thấy, các tinh thể băng được tạo ra tương đối nhỏ hơn so với cấp đông ABF [7]. Tôm sú cấp đông với nhiệt độ siêu lạnh ở -70 đến -100°C và vận tốc không khí 6 m/giây có tỷ lệ tổn thất (% FL) thấp hơn và lực cắt (CF) gần như tôm tươi so với mẫu cấp đông cấp đông chậm ở - 28 ± 2°C và vận tốc không khí là 4 - 8 m/giây [8]. Ngoài yếu tố chính là nhiệt độ của chất tải lạnh ảnh hưởng đến chất lượng tôm đông lạnh, tốc độ cấp đông còn phụ thuộc một số yếu tố khác (bao bì, độ dày nguyên liệu,...) có ảnh hưởng đến thời gian cấp đông và chất lượng sản phẩm [9].

Cấp đông nhanh bằng chất tải lạnh lỏng là một công nghệ mới có ưu thế vượt trội so với cấp đông bằng chất tải lạnh không khí đã được nghiên cứu ứng dụng thành công tại Việt Nam cho một số loại thủy sản (cá ngừ đại dương, mực ống, hàu, tôm thẻ chân trắng) là kết quả của đề tài cấp quốc gia “*Nghiên cứu công nghệ và thiết bị cấp đông nhanh bằng chất tải lạnh lỏng ứng dụng trong chế biến một số thủy sản Việt Nam*” do Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch. Trong phạm vi bài báo này giới thiệu kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số thông số công nghệ: Độ dày nguyên liệu, nhiệt độ và vận tốc đối lưu của chất tải lạnh lỏng đến thời gian và chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng dạng bỏ đầu nguyên vỏ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu tôm thẻ chân trắng được thu hoạch tại tỉnh Phú Yên loại 40 - 50 con/kg, trọng lượng 20 - 25 g/con, chiều dài toàn thân 130 - 150 mm và sau khi sơ chế cắt đầu 90 - 110 mm, chu vi thân vùng dày nhất 32 - 45 mm (tương ứng đường kính 10 - 15 mm). Nguyên liệu được bảo quản

nhệt độ 0 - 4°C trước khi đưa vào chế biến trong thời gian ≤ 48 giờ.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Hoá chất: Formalin (Trung Quốc); cồn 100% (Việt Nam), acetic (Trung Quốc), chloroform (Trung Quốc), nước cất, Xylen, Hematoxylin Harris (Merck, Đức), Eosine Y (Merck, Đức), NH₄OH (Trung Quốc), HCl (Trung Quốc), axit picric (Trung Quốc), Toluidine Blue O (Ấn Độ). Keo dán lá kính (Laika, Mỹ).

Vật liệu bao gói được sử dụng loại phổ biến trên thị trường PA độ dày 100 µm của Công ty TNHH Sản xuất và Thương mại Ngũ Long

Dụng cụ: Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất, kẹp không máu, kéo, phiến kính, lá kính, găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Quy trình sơ chế và xử lý nguyên liệu

Nguyên liệu tôm thẻ chân trắng tươi → phân loại (phủ lớp đá vảy đảm bảo nhiệt độ bảo quản ≤ 6°C) → cắt đầu tôm (bỏ đầu giữ nguyên vỏ HLSO) → rửa sạch bằng nước lạnh ≤ 6°C → loại bỏ tạp chất → phân cỡ → định lượng → bao gói hút chân không → cấp đông bằng chất tải lạnh lỏng (nhiệt độ tâm sản phẩm sau cấp đông đạt - 18°C) → bảo quản đông ở nhiệt độ - 20 ± 1°C.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm

- *Thực nghiệm 1: Ảnh hưởng của độ dày nguyên liệu đến thời gian cấp đông và chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông*

Mẫu thí nghiệm được bao gói bằng bao bì PA với khối lượng 200 ± 10 g/gói ở 4 mức độ dày nguyên liệu (10 ± 1; 15 ± 1; 20 ± 1; 25 ± 1 mm) được lựa chọn theo cỡ kích đồng đều phù hợp tương ứng các thí nghiệm (10 ± 1 mm/1 lớp; 15 ± 1 mm/1 lớp; 20 ± 1 mm/2 lớp; 25 ± 1 mm/2 lớp), 10 gói/công thức thí nghiệm được cấp đông ở nhiệt độ chất tải lạnh lỏng - 30°C với cùng độ dày bao gói 100 µm và vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng 0,4 m/s.

- *Thực nghiệm 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ chất tải lạnh lỏng đến thời gian cấp đông và chất lượng tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông*

Mẫu thí nghiệm được bao gói bằng bao bì PA với độ dày nguyên liệu thích hợp được lựa chọn từ

kết quả thực nghiệm 1. Khối lượng mẫu 200 g/gói, 10 gói/công thức thí nghiệm và cấp đông ở 3 mức nhiệt độ (- 25°C; - 30°C; -35°C), với cùng độ dày bao gói 100 µm và vận tốc đối lưu 0,4 m/s.

- *Thực nghiệm 3: Ảnh hưởng của vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng đến thời gian cấp đông và chất lượng tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông*

Mẫu thí nghiệm được bao gói bằng bao bì PA với độ dày nguyên liệu từ kết quả thực nghiệm 1 và nhiệt độ chất tải lạnh thực nghiệm 2. Khối lượng mẫu 200 g/gói, 10 gói/công thức thí nghiệm được cấp đông với 3 mức vận tốc đối lưu (0,4 m/s; 0,5 m/s và 0,6 m/s) với cùng độ dày bao gói 100 µm.

- *Thực nghiệm 4: Đánh giá hiệu quả của công nghệ cấp đông tôm thẻ chân trắng bằng chất tải lạnh lỏng so với cấp đông IQF*

Mẫu thí nghiệm được bao gói bằng bao bì PA độ dày 100 µm, độ dày nguyên liệu, nhiệt độ cấp đông bằng chất lỏng và vận tốc đối lưu từ kết quả thực nghiệm (1, 2, 3). Khối lượng mẫu 200 g/gói được phân tích, so sánh chất lượng với sản phẩm tôm cấp đông bằng thiết bị IQF của Công ty Bá Hải.

Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng sản phẩm: Thời gian cấp đông (phút); cảm quan QIM (điểm); tỷ lệ tách nước (%), biến đổi màu (ΔE) và cấu trúc thông qua hình ảnh SEM. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại.

Các thực nghiệm được tiến hành bằng thiết bị cấp đông quy mô phòng thí nghiệm với dải nhiệt độ chất tải lạnh lỏng có thể điều chỉnh trong khoảng từ - 20°C ÷ - 36°C, tốc độ khuấy lưu chuyển dòng chất tải lạnh tương ứng vận tốc đối lưu 0,2 - 0,6 m/s, năng suất 5 kg nguyên liệu/mẻ.

2.3.3. Phương pháp phân tích và kỹ thuật sử dụng

- Lấy mẫu theo TCVN 5276-90 [10].

- Xác định nhiệt độ tâm sản phẩm bằng nhiệt kế tự ghi với đầu sensor Log Tag RID30-7R (New Zealand) với dải đo -30°C ~ +60°C, sử dụng mũi khoan chuyên dụng để đặt vị trí đo nhiệt độ.

- Xác định hàm lượng nước tách ra từ mẫu sau rã đông: Theo kết quả nghiên cứu của Atani và cs

(2022) [11]. Mẫu tôm thẻ chân trắng đông lạnh vẫn được giữ nguyên bao bì được rã đông về nhiệt độ 4°C bằng đặt trong tủ lạnh có nhiệt độ $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Sau đó, tháo bỏ bao bì và tiến hành xác định nguyên liệu sau rã đông. Hàm lượng nước tách ra sau rã đông được xác định theo công thức sau: Tỷ lệ nước tách ra sau rã đông (%) = $(W_1 - W_2)/W_1 \times 100$; W_1 là khối lượng của mẫu trước khi cấp đông (g), W_2 là khối lượng của mẫu sau khi rã đông (g).

- Xác định màu sắc: Mẫu được chụp bằng máy ảnh Canon độ phân giải 12.1 MP và số liệu L, a, b thu được qua phần mềm phân tích màu sắc Color - Computer - Vision. L: Biểu thị từ sáng tới tối có giá trị từ 0 - 100; a: Biểu thị từ màu xanh lá cây đến đỏ có giá trị từ -60 ÷ +60; b: biểu thị từ màu vàng đến xanh da trời có giá trị từ -60 ÷ +60. Mức độ thay đổi màu sắc được đánh giá theo hệ số ΔE (tổng sai biệt màu sắc), được tính dựa trên các giá trị màu $\Delta L, \Delta a, \Delta b$; $\Delta E_{ab} = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2 - a_1)^2 + (b_2 - b_1)^2}$, a_1, b_1, L_1 là các giá trị của nguyên liệu đầu; a_2, b_2, L_2 là các giá trị của mẫu cần đo.

- Phân tích cấu trúc mô tế bào bằng kính hiển vi quang học: Sự hình thành tinh thể đá trong mô tế bào đông lạnh được xác định bằng kính hiển vi bằng cách quan sát sự thay đổi cấu trúc của các mô cơ theo phương pháp của Shi và cs (2018) [12]: Mẫu đông lạnh được cố định trong 48 giờ trong dung dịch cố định của Carnoy (60% ethanol tuyệt đối, 30% chloroform và 10% axit axetic). Các mẫu được khử nước trong ethanol tuyệt đối trong 2 giờ, sau đó qua đêm trong ethanol: toluene (50%: 50%). Các mẫu mô được chuyển sang khử nước qua cồn và được đúc khối paraffin. Mẫu đúc paraffin qua cắt mẫu với dày 10 µm và gắn trên các phiến kính, sấy khô qua đêm ở 40°C và nhuộm màu bằng dung dịch màu xanh toluidine 0,5%. Tiêu bản được quan sát và chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học Axio lab A1 (ZEISS - Đức).

2.3.4. Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan theo chỉ số chất lượng QIM (*Quality Index Method*) đã được xây dựng bởi Lopes (2018) [13] được mô tả tại bảng 1. Trong đó, 0 - 1 điểm: Chất lượng rất tốt; 1 - 3 điểm đạt loại tốt; 3 - 5 điểm loại trung bình; 5 - 8 điểm: Loại kém.

Bảng 1. Chỉ số chất lượng QIM của tôm thẻ chân trắng

Chỉ tiêu	Thuộc tính	Mô tả	Điểm
Màu sắc	Đốm đen	Không xuất hiện	0
		Những đốm đen nhỏ (0,5 mm) riêng rẽ, xuất hiện < 50% trên tôm	1
		Những đốm đen nhỏ (0,5 mm) riêng rẽ, xuất hiện > 50% trên tôm	2
		Đốm đen kích thước lớn hơn (1 mm) riêng rẽ, xuất hiện < 50% trên tôm	3
		Nhiều đốm đen kích thước lớn hơn (1 mm) riêng rẽ, xuất hiện > 50% trên tôm	4
		Nhiều đốm đen kích thước lớn hơn (1 mm) riêng rẽ, xuất hiện 100% trên tôm	5
Độ bám dính	Thân tôm	Bám dính mạnh, không mềm vỏ, không giãn đứt.	0
		Giãn đứt nhẹ, không nứt đứt, không đứt đuôi, không bong tróc vỏ	1
		Giãn đứt, không nứt đứt, không đứt đuôi	2
		Mềm vỏ, nứt đứt, vỡ vỏ, không đứt đuôi	3
Mùi	Tự nhiên, không nấu	Mùi đặc trưng tảo biển	0
		Không mùi, không có mùi lạ	1
		Mùi tanh vị biển	2
		Thoáng mùi khai nhẹ	3
Cấu trúc		Bình thường, săn chắc	0
		Mềm	1
QIM			0 -11

2.3.5. Phân tích thống kê

Kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA và kiểm định LSD (5%) để so sánh sự khác biệt trung bình giữa các nghiệm thức và sự biến động giữa các lần lặp lại trong cùng nghiệm thức theo thời

gian. Các phân tích thống kê sử dụng phần mềm SPSS 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của độ dày nguyên liệu đến thời gian cấp đông và chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông

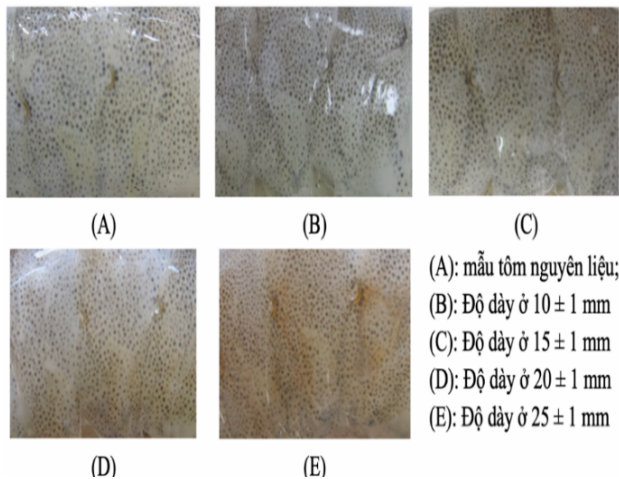
Bảng 2. Ảnh hưởng của độ dày đến thời gian cấp đông và chất lượng tôm thẻ chân trắng

Độ dày nguyên liệu (mm)	Thời gian cấp đông (phút)	Cảm quan QIM (điểm)	Tỷ lệ tách nước (%)	Màu sắc (ΔE)
10 $\pm$ 1	20,5 ^a	1,5 ^a	5,63 $\pm$ 0,36 ^a	9,61 $\pm$ 0,41 ^a
15 $\pm$ 1	23,0 ^b	2,0 ^a	6,09 $\pm$ 0,13 ^a	10,70 $\pm$ 0,14 ^a
20 $\pm$ 1	29,5 ^c	2,5 ^b	7,65 $\pm$ 0,24 ^b	13,16 $\pm$ 0,70 ^b
25 $\pm$ 1	35,0 ^d	3,5 ^c	10,90 $\pm$ 0,33 ^c	17,80 $\pm$ 1,74 ^c

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Trong cùng điều kiện cấp đông bằng chất tải lạnh lỏng với các thông số cố định gồm độ dày bao gói PA 100 μ m, vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng 0,4 m/s và nhiệt độ - 30°C. Kết quả thực nghiệm

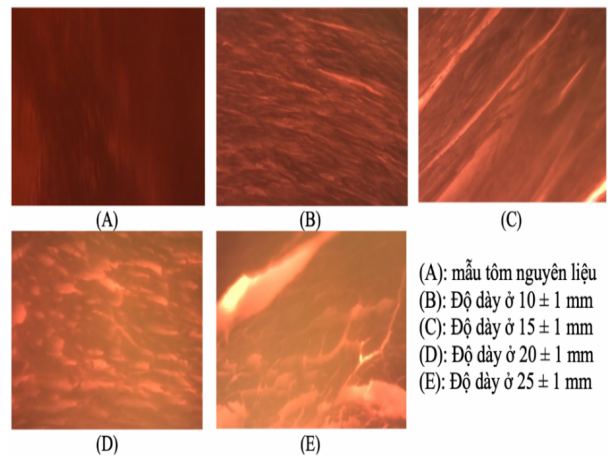
ảnh hưởng của độ dày nguyên liệu đến thời gian cấp đông và chất lượng sản phẩm sau rã đông được tổng hợp tại bảng 2 và mô tả bằng hình ảnh tại hình 1 và 2.



Hình 1. Ảnh hưởng của độ dày nguyên liệu tôm đến màu sắc sản phẩm

Bảng 2 cho thấy, độ dày là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến thời gian và chất lượng sản phẩm cấp đông. Khi độ dày tăng từ 10 ÷ 25 mm thì thời gian cấp đông tăng từ 20,5 ÷ 35,0 phút, tương ứng chất lượng sản phẩm giảm dần. Trong khoảng độ dày từ 10 - 15 mm (01 lớp) cho chất lượng tốt nhất, QIM là 1,5 - 2 điểm, tỷ lệ tách nước 5,63 - 6,09%, ΔE là 9,61 - 10,7, trạng thái con tôm vẫn nguyên vẹn, không gãy đuôi và có độ bám dính mạnh, cấu trúc mô tế bào chưa xuất hiện tổn thương. Trong khi với các mẫu độ dày nguyên liệu cao hơn từ 20 - 25 mm (02 lớp) chất lượng cảm quan giảm nhanh QIM 2,5 - 3,5 điểm, tỷ lệ tách nước 7,65 - 10,9%, ΔE là 13,16 - 17,8. Quan sát hình 1 và hình 2 cho thấy, các mẫu tôm ở các độ dày 20 - 25 mm do thời gian cấp đông dài hơn gây phá vỡ mô tế bào, trạng thái tôm tuy còn nguyên vẹn, không gãy đuôi, có độ bám dính mạnh nhưng có xuất hiện đốm đen nhỏ (0,5 mm). Kết quả đánh giá trên với các mẫu độ dày 20 - 25 mm (02 lớp) so với 10 - 15 mm (01 lớp) thời gian cấp đông kéo dài hơn tương ứng chất lượng thấp hơn có thể do tính không đồng nhất của khối tôm khi xếp 2 lớp tôm so với 1 lớp ở điều kiện bao gói chân không có ảnh hưởng đến khả năng truyền nhiệt trong quá trình cấp đông.

Theo báo cáo của Tổ chức Nông Lương Liên Hợp Quốc (FAO), thời gian cấp đông của tôm thẻ chân trắng phụ thuộc vào độ dày của sản phẩm. Cụ thể, với khối tôm dày 25 mm, thời gian cấp đông



Hình 2. Ảnh hưởng của độ dày nguyên liệu đến mô cấu trúc tôm thẻ chân trắng (Độ phóng đại $\times 10.000$)

trong tủ đông đĩa ngang ở nhiệt độ -35°C là khoảng 40 phút; trong khi đó, nếu tôm được đông gói trong hộp, thời gian cấp đông có thể kéo dài đến 50 phút [14]. Theo Yang và cs (2024) độ dày của khối tôm ảnh hưởng đến sự phân bố nước trong mô cơ, khi tăng độ dày dẫn đến sự phân bố nước không đồng đều, ảnh hưởng đến độ tươi và chất lượng cảm quan của sản phẩm sau khi cấp đông và bảo quản [15]. Trong khi Fernández và cs (2008) cho rằng, khi chiều dày nguyên liệu tăng làm giảm tốc độ truyền nhiệt vào tâm sản phẩm, tăng kích thước tinh thể đá trong sản phẩm cấp đông và giảm chất lượng sản phẩm [16].

Từ kết quả thực nghiệm có thể lựa chọn mức độ dày nguyên liệu tôm trong khoảng từ 10 - 15 mm là phù hợp cho cấp đông bằng chất tải lạnh lỏng, so với các phương pháp cấp đông thông thường khác thời gian rút ngắn 20 - 30 phút, trong khi chất lượng sản phẩm được cải thiện tốt hơn.

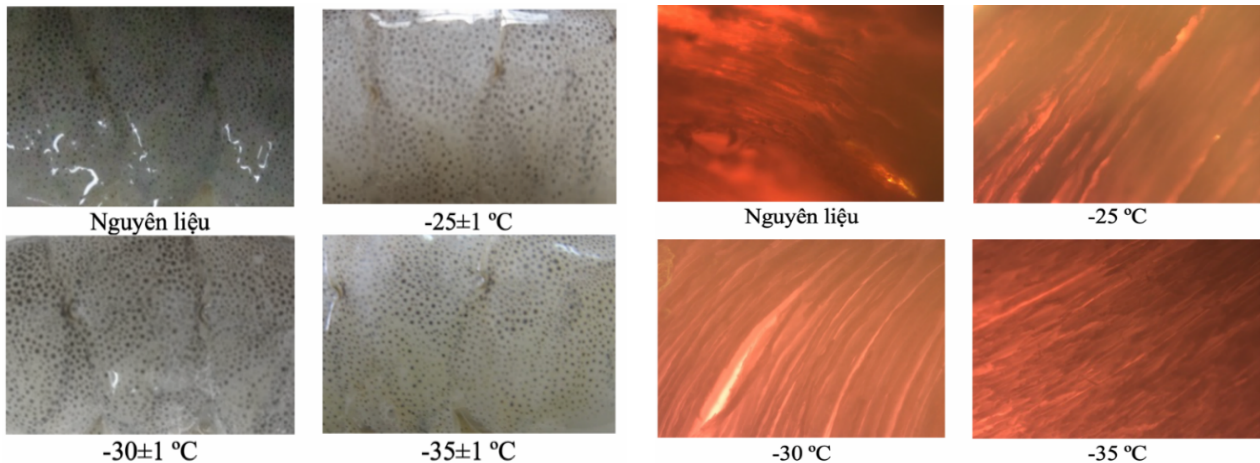
3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chất tải lạnh lỏng đến thời gian cấp đông và chất lượng tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông

Ảnh hưởng của nhiệt độ cấp đông đến thời gian và chất lượng sản phẩm sau khi rã đông, tiến hành thí nghiệm với các thông số độ dày bao gói là 100 μm , độ dày nguyên liệu 10 ± 1 mm và vận tốc đối lưu 0,4 m/s. Tổng hợp kết quả thực nghiệm được trình bày tại bảng 3 và mô tả tại hình 3 và 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chất tải lạnh lỏng đến thời gian cấp đông và chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng

Nhiệt độ chất tải lạnh lỏng (°C)	Thời gian cấp đông (phút)	Cảm quan QIM (điểm)	Tỷ lệ tách nước (%)	Màu sắc (ΔE)
- 25 $\pm$ 1	33,0 ^a	2,0 ^a	6,64 $\pm$ 0,23 ^a	15,06 $\pm$ 0,44 ^a
- 30 $\pm$ 1	21,0 ^b	1,5 ^b	5,67 $\pm$ 0,09 ^b	9,67 $\pm$ 0,70 ^b
- 35 $\pm$ 1	14,8 ^c	1,0 ^c	4,61 $\pm$ 0,23 ^c	7,83 $\pm$ 0,28 ^c

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chất tải lạnh lỏng đến màu sắc sản phẩm tôm thẻ chân trắng

Bảng 3 cho thấy, ở nhiệt độ - 25°C thời gian cấp đông kéo dài đến 33 phút, tương ứng chất lượng sản phẩm tôm là kém nhất (tỷ lệ tách nước sau rã đông là 6,64%, QIM 2,0 điểm, ΔE là 15,06), tôm vẫn giữ nguyên hình dạng không bị gãy đuôi, độ bám dính chặt, không mềm vỏ nhưng trong cấu trúc đã bị tổn thương do có đường đứt, rách sợi cơ trên mô tế bào. Trong khi nhiệt độ cấp đông giảm từ - 30°C xuống - 35°C thời gian cấp đông giảm đáng kể từ 21 phút xuống 14,8 phút, chất lượng tôm duy trì được gần tương đương so với sản phẩm trước cấp đông với hình dáng nguyên vẹn, độ bám dính mạnh, không mềm vỏ, cấu trúc mô tế bào được bảo toàn gần như nguyên vẹn; chỉ số QIM và ΔE giảm $\sim \frac{1}{2}$ so với cấp đông ở - 25°C, tỷ lệ tách nước là nhỏ nhất (4,61%).

Nghiên cứu của Jiping Han và cs (2022) đã chỉ ra rằng nhiệt độ cấp đông và phương pháp cấp đông có ảnh hưởng đáng kể đến thời gian cấp

Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ chất tải lạnh lỏng đến mô cấu trúc tôm thẻ chân trắng cấp đông (Độ phóng đại $\times 10.000$)

đông và chất lượng của tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông [17]. Theo nghiên cứu của Qinxu Sun và cs (2022) cho thấy, cấp đông kết hợp từ trường tĩnh (MF) với cường độ 60 mT có thể rút ngắn thời gian cấp đông so với phương pháp cấp đông tĩnh (IF), nhờ khả năng tạo ra các tinh thể đá nhỏ hơn và tăng cường khả năng truyền nhiệt [18]. Nghiên cứu của Silje Ottestad và cs (2011) cũng chỉ ra rằng nhiệt độ cấp đông có ảnh hưởng trực tiếp đến tinh thể đá và sự biến đổi màu sắc của sản phẩm đông lạnh. Mặt khác sự mất màu được phát hiện là đáng kể ngay cả ở nhiệt độ cấp đông thấp ở - 40°C khi cấp đông bằng gió cưỡng bức [19]. Trong khi việc sử dụng phương pháp cấp đông nhanh như LNF hoặc MF giúp duy trì chất lượng tôm tốt hơn so với phương pháp cấp đông chậm bằng gió ABF [7].

Từ kết quả thực nghiệm cấp đông tôm thẻ chân trắng bằng chất tải lạnh lỏng ở nhiệt độ -35°C không những rút ngắn thời gian cấp đông (16

phút) cho chất lượng tốt nhất, so với cấp đông bằng nito lỏng ở -95°C (LNF) cho chất lượng tốt, tuy vậy chi phí cấp đông cao. Trong khi cấp đông gió cưỡng bức (ABF) thời gian cấp đông kéo dài cho chất lượng kém hơn cả.

3.3. Ảnh hưởng của vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng đến thời gian cấp đông và chất lượng tôm thẻ chân trắng sau khi rã đông

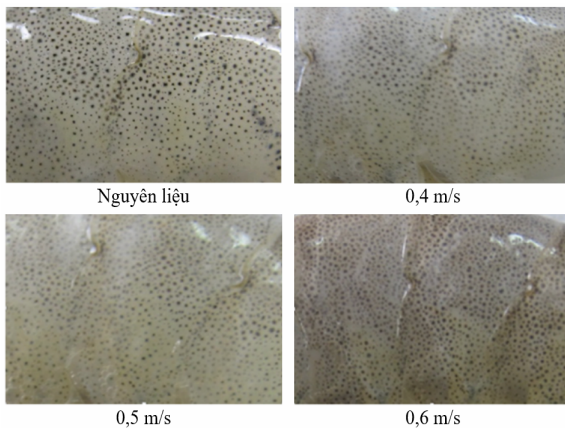
Bảng 4. Ảnh hưởng của vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng đến thời gian cấp đông và chất lượng tôm thẻ chân trắng

Vận tốc đối lưu (m/s)	Thời gian cấp đông (phút)	Cảm quan QIM (điểm)	Tỷ lệ tách nước (%)	Màu sắc (ΔE)
0,4	14,6 ^a	1,3 ^a	$4,17 \pm 0,07^a$	$6,79 \pm 0,29^a$
0,5	12,5 ^b	1,0 ^b	$3,80 \pm 0,14^b$	$5,39 \pm 0,32^b$
0,6	12,2 ^{bc}	1,0 ^{bc}	$3,67 \pm 0,12^{bc}$	$5,27 \pm 0,11^{bc}$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

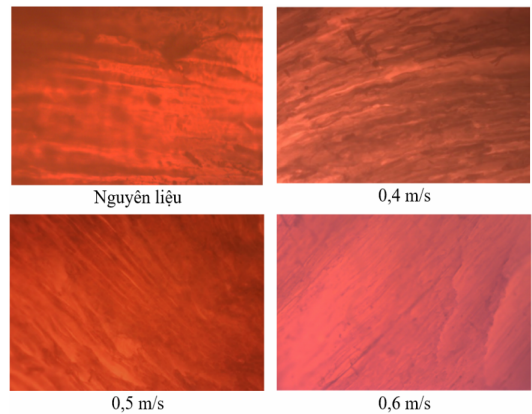
Bảng 4 cho thấy, khi tăng vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng từ 0,4 - 0,5 m/s thì thời gian cấp đông giảm từ 14,6 phút xuống 12,5 phút. Tuy nhiên khi tăng vận tốc đối lưu trong khoảng từ 0,5 - 0,6 m/s thời gian cấp đông giảm là không đáng kể từ 12,5 phút xuống 12,2 phút. Trong khi về chất lượng sản

phẩm giữa hai mẫu thí nghiệm từ 0,5 - 0,6 m/s không có sự chênh lệch nhiều (ở mức ý nghĩa $\alpha \leq 0,05$) về chỉ số tỷ lệ tách nước và màu sắc, trong khi QIM là tương đồng. Mặt khác quan sát hình 5 và 6 cho thấy, về màu sắc và cấu trúc mô thịt tôm không có sự khác biệt nhiều.



Hình 5. Ảnh hưởng của vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng đến màu sắc tôm thẻ chân trắng

Theo Dang và cs (2020), quá trình cấp đông nhanh với vận tốc đối lưu cao làm giảm hiện tượng tái kết tinh khi bảo quản dài hạn, giúp cấu trúc cơ thịt giữ độ đàn hồi và vị tươi gần như ban đầu sau rã đông [20]. Kết quả nghiên cứu của Sirintra Boonsumrej và cs (2007) cho thấy, khi cấp đông bằng không khí với vận tốc 6 m/s, thời gian cấp đông được rút ngắn và tổn thất nước sau



Hình 6. Ảnh hưởng của vận tốc đối lưu đến mô cấu trúc tôm thẻ chân trắng

(độ phóng đại $\times 10.000$)

cấp đông thấp hơn so với phương pháp cấp đông chậm. Điều này giúp tôm giữ được độ tươi ngon và chất lượng tốt hơn sau khi rã đông [24]. Trong khi thực nghiệm bằng chất tải lạnh lỏng với vận tốc đối lưu thấp hơn nhiều 0,5 m/s mà vẫn rút ngắn được thời gian cấp đông, điều này có thể lý giải do chất lỏng có hệ số truyền nhiệt thường lớn hơn từ 70 - 100 lần so với không khí nên hiệu quả

trao đổi nhiệt cao, đồng nghĩa có thể tiết kiệm năng lượng hơn trong quá trình tuần hoàn chất tải lạnh.

Từ kết quả thực nghiệm (Mục 3.1, Mục 3.2 và Mục 3.3) có thể xác định chế độ công nghệ cấp đông tôm thẻ chân trắng thích hợp với quy cách bao gói PA độ dày 100 μm , độ dày nguyên liệu 10 ± 1 mm với nhiệt độ chất tải lạnh lỏng - 35°C, vận tốc đối lưu 0,5 m/s, tương ứng thời gian cấp đông 12,5 phút.

3.4. Đánh giá hiệu quả của công nghệ cấp đông tôm thẻ chân trắng bằng chất tải lạnh lỏng

Từ kết quả thực nghiệm quy mô phòng thí nghiệm với các thông số công nghệ đã được xác định, tiến hành sản xuất thử nghiệm đánh giá hiệu

quả của công nghệ cấp đông bằng chất lỏng so với công nghệ cấp đông truyền thống bằng IQF. Quá trình thử nghiệm đánh giá với cùng nguyên liệu cấp đông là tôm thẻ chân trắng trên hệ thống thiết bị cấp đông bằng chất tải lạnh lỏng, công suất 500 kg/giờ là sản phẩm khoa học của đề tài độc lập cấp Nhà nước do Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch chủ trì đã chuyển giao cho Công ty Bá Hải, tỉnh Phú Yên. Sản phẩm đối chứng được sản xuất trên hệ thống thiết bị cấp đông IQF công suất 500 kg/giờ hiện có tại công ty. Kết quả đánh giá chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng cấp đông được trình bày tại bảng 5 và mô tả màu sắc, cấu trúc tại hình 7 và 8.

Bảng 5. Chất lượng tôm thẻ chân trắng cấp đông bằng chất lạnh lỏng và IQF

Phương pháp cấp đông	Thời gian cấp đông (phút)	Tỷ lệ tách nước (%)	Màu sắc (ΔE)	Cảm quan QIM (điểm)
Chất tải lạnh lỏng	12,6 ^a	3,45 ^a	$5,20 \pm 0,15^a$	1,0 ^a
IQF (chất tải lạnh bằng không khí cưỡng bức)	30,0 ^b	7,58 ^b	$15,70 \pm 0,61^b$	4,0 ^b

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$).

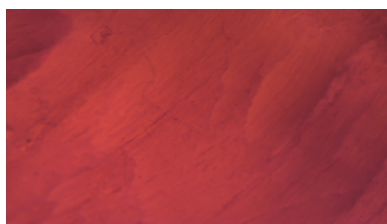


Mẫu cấp đông bằng chất lạnh lỏng

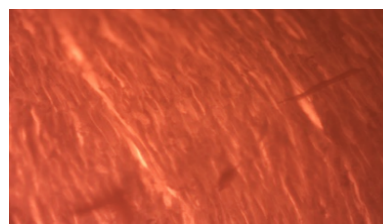


Mẫu cấp đông bằng IQF

Hình 7. Màu sắc của thẻ chân trắng cấp đông nhanh bằng chất lạnh lỏng và IQF



Mẫu cấp đông bằng chất lạnh lỏng



Mẫu cấp đông bằng IQF

Hình 8. Cấu trúc của tôm thẻ chân trắng cấp đông (độ phóng đại $\times 10.000$)

Bảng 5 cho thấy, sự khác biệt giữa mẫu tôm được cấp đông bằng chất lạnh lỏng so với cấp đông bằng IQF (với chất tải lạnh bằng không khí với cùng công suất) là có ưu điểm vượt trội: Thời gian cấp đông rút ngắn được 17,3 phút; tỷ lệ tách nước là 3,45 (giảm 54,5%), ΔE là 5,2 (giảm 66,87%);

điểm cảm quan QIM là 1,0 điểm đạt mức rất tốt, trong khi IQF đạt 4 điểm xếp loại trung bình. Chất lượng tôm sau cấp đông duy trì được màu sắc, mùi tanh tự nhiên, cấu trúc chắc và đàn hồi, vỏ bám chặt. Hình 8 cho thấy, sự khác biệt về chất lượng tôm của hai phương pháp về cấu trúc mô tế bào

của sản phẩm. Trong đó, cấu trúc của sản phẩm tôm cấp đông bằng chất lạnh lỏng về cơ bản không bị phá vỡ bởi các tinh thể đá hình thành trong quá trình cấp đông, trong khi mẫu tôm được cấp đông bằng công nghệ lạnh nhanh IQF có nhiều khoảng vỡ rách cấu trúc khá lớn (khoảng trắng).

4. KẾT LUẬN

Công nghệ cấp đông nhanh bằng chất tải lạnh lỏng có ưu thế vượt trội ứng dụng trong cấp đông tôm thẻ chân trắng. Chế độ công nghệ cấp đông tôm thẻ chân trắng với quy cách bao gói PA độ dày 100 μm nhiệt độ - 35°C, độ dày lớp nguyên liệu 10 $\pm$ 1 mm, vận tốc đối lưu chất tải lạnh lỏng 0,5 m/s tương ứng thời gian cấp đông 12,6 phút cho chất lượng sản phẩm tôm thẻ chân trắng cao nhất với cảm quan QIM đạt 1 điểm xếp loại rất tốt, tỷ lệ tách nước thấp 3,8% và màu sắc đạt ΔE 5,39.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wei-Hsuan Hsu, Ying-Jang Lai, She-Ching Wu (2017). Effects of the anti-microbial peptide pardaxin plus sodium erythorbate dissolved in different gels on the quality of Pacific white shrimp under refrigerated storage. *Food Control*, 73, 712 - 719.
2. Hsu, W. H. Lai, Y. J. Wu, S. C. (2017). Effects of the anti-microbial peptide pardaxin plus sodium erythorbate dissolved in different gels on the quality of Pacific white shrimp under refrigerated storage. *Food Control*, 73, 712 - 719.
3. So-Hyun Kim, Eun-Ju Jung, Dong-Lee Hong, Seung-Eun Lee, Yang-Bong Lee, Sueng-mok Cho & Seon-Bong Kim. (2020). Quality assessment and acceptability of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using biochemical parameters. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(21), 1- 10. DOI:10.1186/s41240-020-00167-6
4. George, R. M. (1993) Freezing processes used in the food industry (review). *Trend in Food Science & Technology*, 4, 134 - 138.
5. Kim, H. W., Kim J. H, Seo J. K., Setyabrata D., Kim, Y. H. B (2018). Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins. *Meat Science*, 139, 162 - 170.
6. Van der Sman R. G. M., Voda A., van Dalen G., Duijster A. (2013). Ice crystal interspacing in frozen foods. *Journal of Food Engineering*, 116, 622 - 626.
7. Wenda Yan, Qinxiu Sun, Ouyang Zheng, Zongyuan Han, Zefu Wang, Shuai Wei, Hongwu Ji và Shucheng Liu (2023). Effect of Liquid Nitrogen Freezing Temperature on the Muscle Quality of *Litopenaeus vannamei*. *Foods*, 12, 4459.
8. Sirintra Boonsumrej, Saiwarun Chaiwanichsiri, Sumate Tantratian, Toru Suzuki, Rikuo Takai (2007). Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, 80 292 - 299.
9. Fernández, P. P., Otero, L., Martino, M. M., Molina-García, A. D., Sanz, P. D. (2008). High-pressure shift freezing: recrystallization during storage. *European Food Research and Technology*, A 227(5), 1367 - 1377.
10. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5276 - 90. Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.
11. Atani, S.H., Hamdami, N., Dalvi-Isfahan, M., Soltanizadeh, N., Fallah-Joshaqani, S. (2022). Effects of microwave-assisted freezing on the quality attributes of lamb meat. *Int. J. Refrig*, 143, 192 - 198.
12. Shi, L., Yang, T., Xiong, G., Li, X., Wang, X., Ding, A., ... & Wang, L. (2018). Influence of frozen storage temperature on the microstructures and physicochemical properties of pre-frozen perch (*Micropterus salmoides*). *Lwt*, 92, 471 - 476.
13. Lopes Da Costa, V. D. (2018). Effects of storage on product quality of bivalves (oysters, scallops, and clams) (Master's thesis, The University of Bergen).
14. FAO. (n.d.). Handling and Processing Shrimp. Retrieved from <https://www.fao.org/4/x5931e/x5931e01.htm>
15. Yang, X. *et al.* (2024). Effect of freeze - Thaw cycles on the freshness of prepackaged *penaeus vannamei*. *Foods*, 13(2), 305. <https://doi.org/10.3390/foods13020305>
16. Fernández, P. P., Otero, L., Martino, M. M., Molina-García, A. D., Sanz, P. D. (2008). High-

pressure shift freezing: Recrystallization during storage. *European Food Research and Technology*, A 227 (5), 1367 - 1377.

17. Jiping Han, Yingjie Sun, Rongxue Sun, Tao Zhang, Cheng Wang & Ning Jiang (2022). Effects of freeze-thaw cycles on physicochemical properties and structure of cooked crayfish (*Procambarus clarkii*). *Food Production, Processing and Nutrition*, 4, 25.

18. Qinxu Sun, Honghong Zhang, Xianqing Yang, Qian Hou, Yan Zhang, Jiangpeng Su, Xianhua Liu, Qihang Wei, Xiuping Dong, Hongwu Ji, Shucheng Liu. (2022). Insight into muscle quality of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) frozen with static magnetic-assisted freezing at different intensities. *Food Chem X* .2022 Nov 23;17:100518. doi: 10.1016/ j.fochx.2022.100518

19. Silje Ottestad, Grethe Enersen, and Jens Petter Wold (2011). Effect of Freezing Temperature on the Color of Frozen Salmon. *Journal of Food Science*, 76, 423 - 427.

20. Dang, T. M. D., Phan, H. N., & Nguyen, T. L. (2020). Effect of freezing rates on microstructure and quality of Asian native chicken meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), 14788.

21. Sirintra Boonsumrej, Saiwarun Chaiwanichsiri. (2007). Effect of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, 80(1): 292 - 299; DOI:10.1016/j.jfoodeng. 2006.04.059

RESEARCH ON FACTORS AFFECTING THE QUALITY OF WHITELEG SHRIMP PRODUCTS DURING RAPID FREEZING USING LIQUID COOLANT

Pham Anh Tuan¹, Nguyen Thi Minh Nguyet¹, Le Duc Thong¹

¹ *Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post-Harvest Technology*

Abstract

The objective of this research is to experimentally determine several parameters for freezing whiteleg shrimp using a liquid coolant. The main parameters and their investigated ranges include: Raw material thickness (10 ÷ 25 mm), liquid coolant temperature (-25 ÷ -35°C), convection velocity (0.4 ÷ 0.6 m/s), with uniform packaging using 100 µm thick PA material. The goal of the experiment is to assess the quality of whiteleg shrimp after thawing based on the following criteria: Freezing time (minutes), drip loss after thawing (%), sensory quality using QIM score (points), color difference (ΔE), structural analysis of tissue cells in the frozen product. The results determined the optimal technological parameters for freezing whiteleg shrimp using a liquid coolant at a temperature of -35°C, raw material thickness of 10 ± 1 mm, and convection velocity of 0.5 m/s. This condition corresponds to a freezing time of 12.6 minutes and yields the highest product quality, with a QIM sensory score of 1 point (rated as excellent), drip loss of 3.8%, and color difference ΔE of 5.39.

Keywords: *Whiteleg shrimp, rapid freezing, liquid coolant, quality, structure*

Ngày nhận bài: 11/05/2025

Ngày chuyển phản biện: 14/06/2025

Ngày thông qua phản biện: 22/6/2025

Ngày duyệt đăng: 28/7/2025

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH HẤP NHIỆT - LÀM NGUỘI THEO CHU KỲ KẾT HỢP TIỀN XỬ LÝ BẰNG ENZYME PULLULANASE ĐẾN HÀM LƯỢNG TINH BỘT KHÁNG TIÊU HÓA (RS3) TỪ BỘT GẠO

Phạm Cao Thăng¹, Phạm Anh Tuấn¹, Nguyễn Duy Lâm^{2,*}

¹ Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

² Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

* Email: lamnd@ntt.edu.vn

TÓM TẮT

Tinh bột kháng tiêu hóa (Resistant Starch - RS), đặc biệt là RS3, đã được nhiều nghiên cứu ghi nhận có lợi cho sức khỏe đường ruột, hỗ trợ điều hòa đường huyết và góp phần giảm nguy cơ mắc một số bệnh mạn tính. Tuy nhiên, hàm lượng RS3 trong bột gạo còn thấp, đòi hỏi có các giải pháp công nghệ hiệu quả để nâng cao giá trị sử dụng. Nghiên cứu này khảo sát sự ảnh hưởng của quá trình hấp nhiệt - làm nguội theo chu kỳ, kết hợp tiền xử lý thủy phân bằng enzyme pullulanase đến hàm lượng RS3 từ bột gạo giống IR50404. Thí nghiệm được thực hiện với các mức nhiệt hấp 121 - 140°C, thời gian 30 - 120 phút, chu kỳ 1 - 4 và nhiệt độ làm nguội 2 - 50°C, trong 6 - 24 giờ. Kết quả cho thấy, chế độ hấp nhiệt 130°C trong 60 phút, làm nguội 4°C trong 18 giờ lặp lại 3 chu kỳ làm tăng đáng kể hàm lượng RS3. Ngoài ra, nhiệt độ làm nguội 4°C tạo hàm lượng RS3 cao hơn so với các mức 2°C và 6°C, cho thấy đây là điều kiện thích hợp cho quá trình hình thành mầm tinh thể. Đồng thời, khoảng nhiệt 121 - 140°C được xác định là thuận lợi cho sự phát triển nhân tinh thể trong giai đoạn tạo RS3. Dựa trên các kết quả thu được, nghiên cứu đã đưa ra miền nhiệt độ phù hợp cho quá trình hình thành và phát triển tinh thể, cụ thể (2°C < nhiệt độ hình thành mầm tinh thể < 6°C) và (121°C < nhiệt độ phát triển nhân tinh thể < 140°C).

Từ khóa: *Tinh bột gạo, tinh bột kháng, hấp nhiệt, biến tính.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh bột là thành phần polysaccharide chính trong chế độ ăn của con người, đóng vai trò quan trọng không chỉ về mặt dinh dưỡng mà còn trong nhiều ứng dụng công nghệ thực phẩm. Tinh bột kháng tiêu hóa (Resistant Starch - RS), một loại tinh bột không bị thủy phân bởi enzyme tiêu hóa ở ruột non mà được lên men tại ruột già, sinh ra các axit béo chuỗi ngắn (SCFA) có lợi như butyrat, propionat và axetat. Các hợp chất này có tác dụng tích cực đối với sức khỏe như: Cải thiện môi trường vi sinh vật đường ruột, giảm cholesterol máu, điều hòa đường huyết và phòng ngừa ung thư đại tràng. Dựa trên đặc điểm hình thành và tính chất cấu trúc, tinh bột kháng được chia thành năm loại (RS1 - RS5), trong đó RS3 (retrograded starch) là dạng có tính ổn định nhiệt

tốt và dễ ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm nhờ khả năng hình thành thông qua quá trình xử lý nhiệt - làm nguội [1]. RS3 - dạng tái tinh thể hóa - được hình thành khi tinh bột trải qua quá trình hồ hóa bằng nhiệt, sau đó được làm nguội, giúp các chuỗi amylose liên kết tạo thành cấu trúc xoắn kép ổn định, kháng lại quá trình thủy phân bởi enzyme tiêu hóa [2]. So với các loại RS khác, RS3 có độ bền nhiệt cao và ổn định trong điều kiện chế biến thực phẩm, nên rất tiềm năng trong các ứng dụng công nghiệp [3]. Gạo, đặc biệt là giống IR50404 phổ biến ở Việt Nam, là nguồn tinh bột dồi dào, chứa hàm lượng amylose cao ($\geq 25\%$) - một yếu tố quan trọng thúc đẩy quá trình tạo RS3 [3, 4].

Tinh bột gạo nguyên bản thường có tỷ lệ amylose không cao và cấu trúc hạt tinh thể yếu,

làm hạn chế hiệu suất tạo RS3 nếu chỉ áp dụng các phương pháp xử lý vật lý thông thường. Tuy nhiên, tinh bột gạo có khả năng hồ hóa cao và dễ bị enzyme phân giải, tạo điều kiện thuận lợi để điều chỉnh và tăng hàm lượng RS3 thông qua các phương pháp biến tính phù hợp như thủy phân enzyme kết hợp xử lý nhiệt ẩm [5]. Trong số các enzyme thủy phân, pullulanase có vai trò đặc biệt quan trọng nhờ khả năng cắt liên kết α -1,6-glycosidic trong amylopectin, làm tăng hàm lượng chuỗi amylose tự do - là tiền đề để hình thành mạng lưới kết tinh RS3 sau xử lý nhiệt/làm nguội [6]. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, việc kết hợp tiên xử lý bằng enzyme pullulanase với quy trình hấp nhiệt - làm nguội theo chu kỳ giúp tăng đáng kể hàm lượng RS3 trong tinh bột ngô, sắn, đậu và gạo [6, 7]. Trong quá trình xử lý nhiệt để sản xuất tinh bột RS3 hiện nay, sự hình thành RS3 ngoài sự phụ thuộc vào nồng độ tinh bột, độ thủy phân liên quan tới hàm lượng amylose và độ dài mạch amylose, còn phụ thuộc nhiều vào chế độ nhiệt (nhiệt độ và thời gian gia nhiệt), số lần (chu kỳ) xử lý làm mát/nhiệt, thời gian và nhiệt độ tồn trữ [8, 9].

Tuy nhiên, việc tối ưu hóa số chu kỳ hấp nhiệt/làm nguội cũng như sự tương tác giữa enzyme và các điều kiện nhiệt độ, thời gian trong việc tạo RS3 từ gạo vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Mục tiêu của bài báo này nhằm nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình hấp nhiệt - làm nguội theo chu kỳ kết hợp tiên xử lý bằng enzyme pullulanase đến hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa (RS3) từ bột gạo giống IR50404, từ đó xây dựng nền tảng cho việc phát triển quy trình sản xuất RS3 phù hợp với quy mô công nghiệp và yêu cầu thực phẩm chức năng hiện đại.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Bột gạo giống IR50404 của Công ty TNHH Chế biến thực phẩm Hòa Phát (39/4F Bà Điểm 8, ấp Nam Lân, xã Bà Điểm, huyện Hóc Môn, thành phố Hồ Chí Minh). Tinh bột đã được tinh chế có hàm lượng carbohydrate tổng > 90%, protein < 0,5% và lipid < 0,02%, hàm lượng amylose 29,14%, hàm lượng tinh bột kháng 2,92%, độ ẩm 5% [10].

2.2. Vật liệu hóa chất

Enzyme pullulanase (Promozyme®D2) từ *Bacillus acidopullulyicus* của Novozymes (Biotechnology, China), hoạt độ 1.000 NPUN/g. Bộ kit Megazyme (Ireland) với 3 loại enzyme: α -amylase bền nhiệt (Megazyme cat. no. E-BLAAM, 10.000 U/ml với cơ chất tinh bột tan), protease tinh khiết (Megazyme cat. no. E-BSPRT, 50 mg/ml, ~350 tyrosine U/ml), amyloglucosidase tinh khiết (Megazyme cat. no. E-AMGDF, 3.300 U/ml với cơ chất là tinh bột tan). Các hóa chất phân tích khác đều thuộc loại tinh khiết.

2.3. Phương pháp chuẩn bị mẫu và tiến hành thí nghiệm

+ Bước 1: Chuẩn bị mẫu thí nghiệm trước khi tiến hành tiên xử lý thủy phân bằng enzyme pullulanase với các điều kiện chung: 25 g tinh bột gạo/mẫu với cùng hàm lượng cơ chất 15% (w/w), pH 5,5 được hồ hoá ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 30 phút trước khi tiến hành thủy phân bằng pullulanase [10].

+ Bước 2: Các thông số của quá trình tiên xử lý thủy phân bằng enzyme pullulanase: Hàm lượng nước/tinh bột 15% (w/w); pH 5,5; nhiệt độ 54,4°C; thời gian thủy phân 10,4 giờ; nồng độ enzyme 2,2%. Kết thúc quá trình thủy phân được bất hoạt enzyme bằng hấp 130°C trong 30 phút [11].

+ Bước 3: Mẫu tinh bột sau quá trình thủy phân enzyme được tiến hành quá trình hấp nhiệt/làm nguội 3 chu kỳ: Hấp nhiệt (130°C, 60 phút)/làm nguội và thời gian lưu trữ (4°C, 18 giờ).

2.4. Phương pháp thực nghiệm

Thí nghiệm 1: Thực nghiệm xác định ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và chu kỳ hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3:

Tiến hành 3 nhóm thí nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và chu kỳ hấp nhiệt/làm nguội, trong đó chế độ làm nguội của tất cả các thí nghiệm được cố định (nhiệt độ 30°C, thời gian lưu trữ 12 giờ) tương ứng ký hiệu và miền khảo sát sau:

TN1.1: Thực nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3 với 4 mức nhiệt độ (121°C, 130°C, 134°C, 140°C). Các thí nghiệm được

thực hiện với 1 chu kỳ và thời gian hấp nhiệt 60 phút.

TN1.2: Thực nghiệm ảnh hưởng của thời gian hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3 với 4 mức thời gian (30 phút, 60 phút, 90 phút, 120 phút). Các thí nghiệm được thực hiện với 1 chu kỳ và nhiệt độ từ kết quả thí nghiệm TN1.1

TN1.3: Thực nghiệm ảnh hưởng của chu kỳ hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3 với 4 mức chu kỳ hấp (1, 2, 3, 4). Các thí nghiệm được thực hiện với mức nhiệt độ và thời gian từ kết quả (TN1.1, TN1.2)

Điều kiện chung của 3 nhóm thí nghiệm: Các mẫu thí nghiệm ở cùng điều kiện với các mẫu tinh bột đã tiền xử lý bằng enzyme pullulanase với các thông số công nghệ đã được lựa chọn (mục 2.3)

Thí nghiệm 2: Thực nghiệm xác định nhiệt độ và thời gian lưu ủ nhiệt sau làm nguội đến hàm lượng RS3

Tiến hành 2 nhóm thí nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian lưu ủ nhiệt sau làm nguội. Thông số công nghệ của quá trình hấp nhiệt (nhiệt độ, thời gian, chu kỳ) trước quá trình làm nguội được kế thừa từ kết quả thực nghiệm (TN1.1, TN1.2 TN1.3), tương ứng ký hiệu và miền khảo sát như sau:

TN2.1: Thực nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ làm nguội đến khả năng tạo RS3 với 6 mức nhiệt độ (2°C, 4°C, 6°C, 30°C, 40°C, 50°C). Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần với cùng thời gian lưu nhiệt sau làm nguội là 12 giờ.

TN2.2: Thực nghiệm ảnh hưởng của thời gian lưu ủ nhiệt sau làm nguội đến hàm lượng RS3 với 4 mức thời gian (6 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ). Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần với cùng nhiệt độ làm nguội đã được xác định từ thực nghiệm (TN2.1).

2.5. Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng tinh bột kháng RS3 theo phương pháp AOAC Method 985.29 bằng bộ kit của Megazyme với 3 loại enzyme kèm theo [12]. Trong đó, α -amylase và amyloglucosidase để thủy phân thành phân tinh bột tiêu hóa thành các phân hòa tan, protease để thủy phân 2 enzyme đã nêu. Tiến hành kết tủa bằng cồn và rửa để loại bỏ

những thành phần hòa tan. Sản phẩm cuối được xác định hàm lượng tro và hàm lượng protein để hiệu chỉnh kết quả.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được phân tích theo ANOVA đơn yếu tố và biểu thị là giá trị trung bình. Duncan's test được sử dụng để kiểm định sự khác nhau có ý nghĩa của các giá trị trung bình. Sử dụng phần mềm SPSS ver 16.0 cho các phân tích đã nêu.

2.7. Thiết bị sử dụng

Cân phân tích (BP 211D, Sartorius, Germany); máy đo pH (Model C831, Turnhout, Belgium); máy quang phổ (Thermo Scientific); tủ sấy (Memmert, Germany); bể ổn nhiệt thường JSRC-13C (JS Research, Hàn Quốc); bể ổn nhiệt có lắc JSSB-30T (JS Research, Hàn Quốc); nồi hấp tự động (Yuin, Việt Nam); máy khuấy từ gia nhiệt (IKA, Đức)...

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

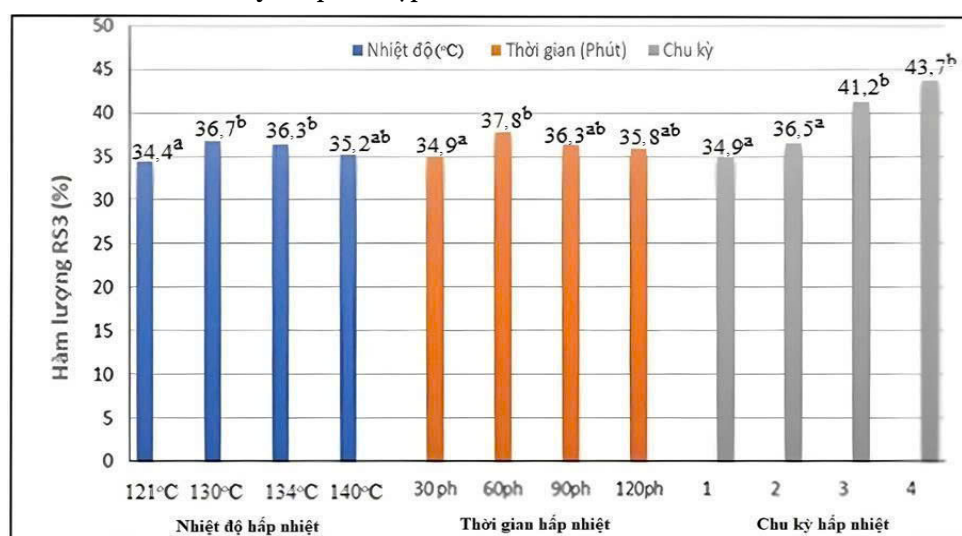
3.1. Kết quả thực nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và chu kỳ hấp nhiệt đến hàm lượng RS3

Tiến hành thực nghiệm với 3 nhóm thí nghiệm tương ứng ký hiệu và miền khảo sát: TN1.1 (121°C, 130°C, 134°C, 140°C); TN1.2 (30 phút, 60 phút, 90 phút, 120 phút) và TN1.3 (1, 2, 3, 4 chu kỳ). Điều kiện bố trí thí nghiệm (Mục 2.4 - Nhóm thí nghiệm 1). Kết quả thực nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và chu kỳ hấp nhiệt đến khả năng làm giàu hàm lượng RS3 được biểu diễn tại (Hình 1).

Ảnh hưởng của nhiệt độ hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3 (TN1.1) với 4 mức nhiệt độ (121°C, 130°C, 134°C, 140°C), thực hiện với 1 chu kỳ hấp nhiệt trong thời gian 60 phút cho thấy: Nhiệt độ hấp nhiệt là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng RS3. Trong khoảng nhiệt độ từ 121 - 130°C thì hàm lượng RS3 tăng mạnh từ 34,4 - 36,7%, tiếp sau hàm lượng RS3 bắt đầu có xu hướng giảm dần khi nhiệt độ tăng từ 130°C - 134°C và tốc độ giảm mạnh hơn từ 134°C - 140°C. Điều này chứng tỏ ở mức nhiệt độ 140°C là điểm tiệm cận gần với miền nhiệt độ nóng chảy ($T_m > 140^\circ\text{C}$) của tinh bột gạo IR50404. Nếu tăng nhiệt độ trên 140°C thì hàm

lượng RS3 giảm dần và duy trì (tốc độ phát triển mầm bằng 0), điều này có thể lý giải là do tại điểm nhiệt độ nóng chảy ($\geq T_m$) tốc độ phát triển nhân tinh thể sẽ giảm đến 0. Điều này là phù hợp với

ngghiên cứu của Eerlingen và cs (1992) về ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ tạo mầm, phát triển mạng tinh thể và kết tinh tổng thể [13].



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và chu kỳ hấp nhiệt đến hàm lượng RS3

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng đơn vị tính là khác nhau có ý nghĩa với $p < 0,05$

Kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu của Budiyantri và cs (2023) khi thực hiện một phân tích hệ thống trên 68 bộ dữ liệu từ nhiều nghiên cứu sử dụng các loại tinh bột khác nhau (ngô, gạo, khoai, đậu, sắn...) nhằm đánh giá ảnh hưởng của xử lý nhiệt ẩm (HMT) đến hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa RS3. Kết quả cho thấy nhiệt độ HMT trong khoảng 120 - 130°C là điều kiện tối ưu để thúc đẩy quá trình kết tinh và tăng hàm lượng RS3 [14]. Trong nghiên cứu của Isra và cs (2023) cũng đã tiến hành phân tích tổng hợp trên 14 nghiên cứu về phương pháp xử lý nhiệt ẩm (HMT) đối với thực phẩm giàu carbohydrate. Kết quả phân tích chỉ ra rằng, các điều kiện HMT hiệu quả thường được thực hiện ở nhiệt độ từ 84 - 140°C và độ ẩm thấp (18 - 30%). Đặc biệt, nhiệt độ trong khoảng 121 - 130°C được nhiều nghiên cứu ghi nhận là lý tưởng cho việc tái sắp xếp chuỗi amylose và hình thành các nhân tinh thể, góp phần làm tăng tỷ lệ kết tinh RS3 [15].

Như vậy, nhiệt độ hấp nhiệt 130°C nằm trong khoảng tối ưu từ 121 - 140°C (121°C < Nhiệt độ hấp nhiệt < 140°C) cho quá trình hình thành nhân tinh thể, đây là yếu tố quan trọng giúp tăng cường mức độ kết tinh tổng thể và từ đó nâng cao hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa RS3.

Ảnh hưởng của thời gian hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3 (TN1.2) với 4 mức thời gian (30 phút, 60 phút, 90 phút, 120 phút), thực hiện với 1 chu kỳ hấp nhiệt ở nhiệt độ 130°C (kết quả thực nghiệm TN3.1) cho thấy: Thời gian hấp nhiệt là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng RS3, cụ thể hàm lượng RS3 tăng nhanh trong khoảng thời gian từ 30 - 60 phút và tiếp sau đó RS3 có xu hướng giảm dần khi tăng thời gian đến 90 phút và 120 phút.

Zheng và cs (2020) đã chứng minh rằng thời gian hấp nhiệt có tác động đáng kể đến hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa RS3 trong gạo. Cụ thể, RS3 tăng dần trong khoảng thời gian từ 20 - 60 phút và đạt mức cao nhất ở 60 phút với giá trị 14,72%. Tuy nhiên, khi tiếp tục kéo dài thời gian hấp lên 80 và 100 phút, RS3 bắt đầu giảm do sự phân hủy các chuỗi amylose dài, yếu tố cần thiết cho quá trình tái kết tinh [16]. Chou và cs (2010) nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian xử lý nhiệt đến hàm lượng RS3 từ tinh bột khoai tây. Kết quả cho thấy, RS3 tăng rõ rệt khi kéo dài thời gian hấp từ 30 - 60 phút ở 90°C (nồi cách thủy) hoặc đến 1 giờ ở 121°C (nồi hấp). Tuy nhiên, nếu tiếp tục kéo dài thời gian xử lý đến 90 phút (nồi cách thủy) hoặc 2 - 3 giờ (nồi hấp), hàm lượng RS3 có xu hướng giảm, được cho

là do thủy phân nhiệt kéo dài phá vỡ cấu trúc chuỗi amylose, làm giảm khả năng tái kết tinh [17].

Ảnh hưởng của chu kỳ hấp nhiệt đến khả năng tạo RS3 với 4 mức chu kỳ hấp (1, 2, 3, 4). Các thí nghiệm được thực hiện với nhiệt độ 130°C và thời gian, 60 phút được lựa chọn từ kết quả thực nghiệm của (TN1.1, TN1.2). Quan sát số liệu biểu diễn tại hình 1 cho thấy, với các chu kỳ hấp nhiệt/làm nguội tăng từ 1 - 4 chu kỳ thì hàm lượng RS3 có xu hướng tăng liên tục từ 34,9% (1 chu kỳ) đến 43,7% (4 chu kỳ). Trong đó, khi xử lý 2 chu kỳ mức gia tăng RS3 là không đáng kể, tuy vậy RS3 tăng đáng kể từ chu kỳ 3 và 4 chu kỳ. Tuy nhiên, sự khác biệt về hàm lượng RS3 giữa chu kỳ 3 và 4 là không nhiều (41,2% và 43,7%), mặt khác áp dụng xử lý nhiệt nhiều chu kỳ làm tăng chi phí về năng lượng và giảm năng suất chế biến, do vậy việc lựa chọn 3 chu kỳ xử lý hấp nhiệt/làm nguội là hợp lý.

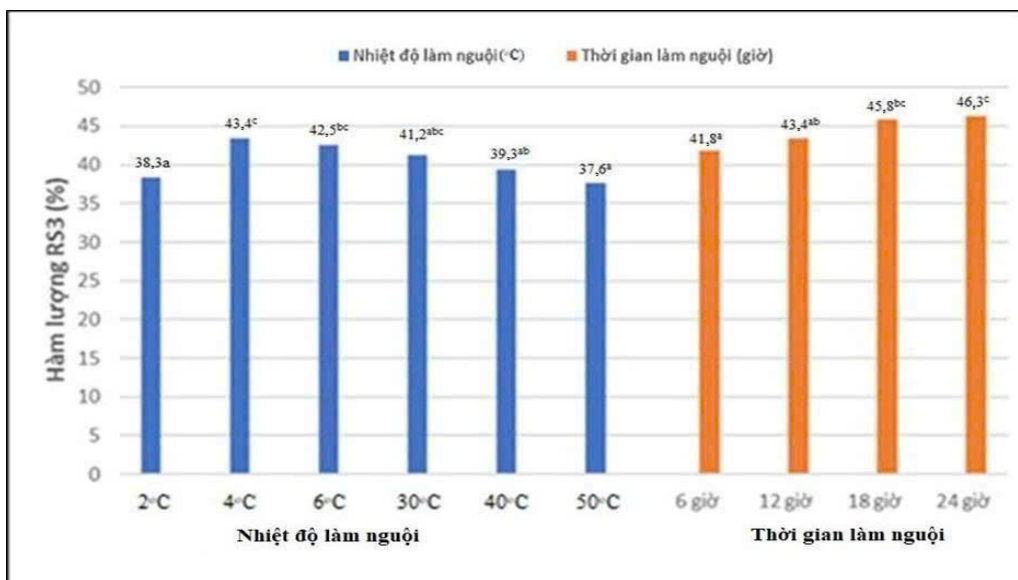
Nhiều nghiên cứu cho thấy, hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa RS3 có xu hướng tăng dần theo số chu kỳ hấp nhiệt - làm nguội. Đặc biệt, theo nghiên cứu của Faridah và cs (2022), hàm lượng RS3 tăng rõ rệt ở chu kỳ thứ 3, đạt mức 24,05%, cao hơn đáng kể so với các chu kỳ trước đó. Tuy

nhien, sự khác biệt về RS3 giữa chu kỳ thứ 3 và thứ 4 là không đáng kể, trong khi chi phí năng lượng có xu hướng tăng. Do đó, việc áp dụng 3 chu kỳ xử lý được đánh giá là lựa chọn hợp lý, cân bằng giữa hiệu quả kỹ thuật và tính kinh tế trong quá trình sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa [9].

Từ kết quả thực nghiệm có thể xác định chế độ công nghệ hấp nhiệt đối với tinh bột gạo đã tiền xử lý thủy phân bằng enzyme pullulanase phù hợp ở nhiệt độ 130°C, thời gian 60 phút và 3 chu kỳ hấp nhiệt/làm nguội, trong đó chế độ làm nguội (nhiệt độ làm nguội 30°C, thời gian lưu ủ nhiệt 12 giờ) tiếp tục được khảo sát tại các thí nghiệm sau.

3.2. Kết quả thực nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ làm nguội và thời gian lưu ủ nhiệt đến hàm lượng RS3

Kế thừa kết quả thực nghiệm (Mục 3.1). Tiến hành thực nghiệm với 2 nhóm thí nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ làm nguội và thời gian lưu ủ nhiệt tương ứng ký hiệu và miền khảo sát: TN2.1 (2°C, 4°C, 6°C, 30°C, 40°C, 50°C); TN2.2 (6 giờ, 12 giờ, 18 giờ, 24 giờ). Điều kiện tiến hành thí nghiệm (Mục 2.4, Nhóm thí nghiệm 2). Kết quả thực nghiệm được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và làm nguội theo chu kỳ đến hàm lượng RS3

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng đơn vị tính là khác nhau có ý nghĩa với $p < 0,05$

Ảnh hưởng của nhiệt độ làm nguội đến khả năng tạo RS3 (TN2.1) với 3 chu kỳ hấp nhiệt/làm nguội trong cùng thời gian lưu ủ nhiệt sau làm nguội là 12 giờ, kết quả cho thấy, nhiệt độ làm

nguội là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng RS3. Theo xu hướng nhiệt độ làm nguội tăng từ 2 - 4°C (38,3 - 43,4%), tiếp sau hàm lượng RS3 giảm dần theo các mức nhiệt độ làm nguội

tăng (6°C, 30°C, 40°C, 50°C) tương ứng (42,5%; 41,2%; 39,3%; 37,6%). Điều này cho thấy, ở mức nhiệt độ 4°C là điểm nhiệt độ gần tiệm cận với miền nhiệt độ thủy tinh (T_g) cũng là miền nhiệt độ phù hợp cho khả năng hình thành mầm tinh thể (khi giảm nhiệt độ xuống 2°C và tăng nhiệt độ đến 6°C thì RS3 đều giảm so với mức 4°C), như vậy, có thể xác định miền nhiệt độ làm nguội tối ưu (2°C < Nhiệt độ làm nguội < 6°C) cũng là miền nhiệt độ phù hợp để hình thành mầm tinh thể. Kết quả thực nghiệm này là phù hợp với công bố của Eerlingen và cs (1992). Sự hình thành mầm tinh thể (nucleation) được cho là thích hợp ở nhiệt độ thấp cách xa nhiệt độ nóng chảy của các tinh thể amylose (khoảng 150°C) nhưng cao hơn nhiệt độ chuyển thủy tinh (khoảng 5°C), trong khi sự phát triển tinh thể lại bị hạn chế ở điều kiện này [13].

Trong nghiên cứu của Wardana và cs (2022), bột khoai môn sau khi được hấp nhiệt ở 121°C trong 30 phút đã được làm nguội ở ba mức nhiệt độ khác nhau: -20°C, 4°C và 25°C, lặp lại hai chu trình. Kết quả cho thấy, nhiệt độ làm nguội có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng RS3, bột khoai môn sau hấp nhiệt ở 4°C cho hàm lượng RS3 cao nhất (13,11%), cao hơn so với -20°C (12,76%) và 25°C (13,02%), cho thấy, đây là mức nhiệt thích hợp để thúc đẩy quá trình tái kết tinh của amylose, làm tăng hiệu quả tạo RS3 [18].

Ảnh hưởng của thời gian lưu ủ nhiệt sau làm nguội đến khả năng tạo RS3 (TN2.2) với 3 chu kỳ hấp nhiệt/làm nguội trong cùng điều kiện nhiệt độ làm nguội là 4°C (kết quả thực nghiệm TN2.1) cho thấy, thời gian làm nguội là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng RS3. Thời gian lưu ủ nhiệt tỷ lệ thuận với hàm lượng RS3, khi tăng thời gian lưu nhiệt từ 6 - 24 giờ thì hàm lượng RS3 tăng từ 41,8% - 46,3%. Tuy vậy mức gia tăng RS3 tương đối đều trong các khoảng thời gian từ 6 giờ, 12 giờ, 18 giờ (khoảng 2%) tiếp theo từ 18 - 24 giờ mức gia tăng thấp hơn (0,5%). Từ đánh giá này có thể lựa chọn thời gian thích hợp để lưu ủ nhiệt sau làm nguội là 18 giờ.

Theo nghiên cứu của Nguyen và cs (2023), thời gian lưu ủ sau khi làm nguội ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng RS3 trong bún làm từ tinh bột đậu xanh. Khi tăng thời gian lưu ủ ở nhiệt độ -10°C

từ 6 - 18 giờ, hàm lượng RS3 tăng lên một cách đáng kể: 10,21% ở 6 giờ, 11,27% ở 12 giờ và đạt 12,83% tại 18 giờ. Tuy nhiên, từ 18 - 24 giờ, sự gia tăng không còn rõ rệt, với hàm lượng RS3 chỉ đạt 13,04% sau 24 giờ. Vì vậy, thời gian lưu ủ tối ưu được xác định là 18 giờ, đảm bảo hiệu quả tăng tạo RS3 cao trong khi tiết kiệm năng lượng hơn so với việc kéo dài thời gian thêm [19].

Từ kết quả của các công trình nghiên cứu về công nghệ xử lý hấp nhiệt/làm nguội đã công bố với các đối tượng nguyên liệu khác nhau như: Bột ngô và tinh bột ngô [20, 21]; gạo [22] cho thấy, hầu hết các nghiên cứu trên đã có đánh giá chung về giải pháp xử lý nhiệt bằng hấp nhiệt/làm nguội theo chu kỳ là có hiệu quả tạo RS3 tương ứng chế độ (nhiệt độ và thời gian hấp nhiệt; nhiệt độ và thời gian làm nguội; chu kỳ), tuy vậy, chưa đưa ra được miền tối ưu của nhiệt độ hấp nhiệt và làm nguội làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo tương ứng nguyên liệu đã khảo sát.

Đối với nghiên cứu này, ngoài kết quả thực nghiệm xác định được chế độ công nghệ thích hợp (nhiệt độ hấp 130°C, 60 phút; nhiệt độ làm nguội 4°C, thời gian lưu trữ 18 giờ với 3 chu kỳ xử lý) đã đưa ra miền nhiệt độ hấp nhiệt và làm nguội phù hợp (lân cận điểm nóng chảy T_m và điểm thủy tinh T_g của tinh bột gạo khảo sát) tương ứng miền nhiệt độ phù hợp của quá trình hình thành và phát triển mầm tinh thể: 2°C < Nhiệt độ hình thành mầm tinh thể < 6°C và 121°C < Nhiệt độ phát triển nhân tinh thể < 140°C. Kết quả này là phù hợp về bản chất của quá trình hấp nhiệt/làm nguội, nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng chính đến tốc độ tạo mầm, tốc độ trưởng thành và sự phát triển của mầm tinh thể để thoái hóa tạo tinh bột RS3 [13].

4. KẾT LUẬN

Quá trình xử lý nhiệt ẩm bằng hấp nhiệt/làm nguội theo chu kỳ là giải pháp công nghệ thích hợp để làm giàu hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa RS3 từ nguyên liệu tinh bột gạo IR50404 đã tiến xử lý bằng enzyme pullulanase. Đã xác định được các thông số công nghệ của quá trình hấp nhiệt/làm nguội 3 chu kỳ: Nhiệt độ hấp nhiệt là 130°C trong thời gian 60 phút, nhiệt độ làm nguội là 4°C và thời gian lưu trữ 18 giờ. Đã đưa ra miền nhiệt độ phù hợp để hình thành và phát triển mầm

tinh thể, cụ thể ($2^{\circ}\text{C} < \text{Nhiệt độ hình thành mầm tinh thể} < 6^{\circ}\text{C}$) và ($121^{\circ}\text{C} < \text{Nhiệt độ phát triển nhân tinh thể} < 140^{\circ}\text{C}$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nathália Trunckle Baptista *et al.* (2024). Harnessing the power of resistant starch: a narrative review of its health impact and processing challenges. *Front. Nutr.* 11: 1369950.
2. Zhang, C., Qiu, M., Wang, T., Luo, L., Xu, W., Wu, J., ... Wang, X. (2021). Preparation, structure characterization, and specific gut microbiota properties related to anti-hyperlipidemic action of type 3 resistant starch from *Canna edulis*. *Food Chemistry*, 351, 129340.
3. Wang, Z., Wang, S., Xu, Q., Kong, Q., Li, F., Lu, L., Xu, Y., Wei, Y. (2023). Synthesis and functions of resistant starch. *Advances in Nutrition* 14, 1131 - 1144.
4. Lai Quoc Dat, Ngo Thanh An, Nguyen Quang Long, Nguyen Hoang Dung, Pham Duy Tien. (2022). Physical and chemical properties of rice varieties grown in Mekong Delta. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 60(5), 767 - 784
5. Farooq, M. A.; Yu, J. (2024). Recent advances in physical processing techniques to enhance the resistant starch content in foods: A Review. *Foods*, 13, 2770.
6. Wijaya, A., Muhandri, T., Hasanah, U., and Setiarto, H, B. (2024). Physical, Chemical, Fermentation and enzymatic modification technology to increase resistant starch and improve prebiotic properties of high carbohydrate foods. *Reviews in Agricultural Science*, 12, 377 - 400.
7. Vatanasuchart, N., Tungtrakul, P., Wongkrajang, K., Naivikul, O. (2010). Properties of pullulanase debranched cassava starch and type-III resistant starch. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 44, 131 - 141.
8. Li, H. Li, H. Liu, Y. Liu, R. Siriamornpun, S.. (2024). Optimization of heat - moisture treatment conditions for high-amylose starch and its application in high - resistant starch triticale noodles. *Foods*, 13, 2724
9. Faridah, D. N., Silitonga, R. F., Indrasti, D., Afandi, F. A., Jayanegara, A., & Anugerah, M. P. (2022). Verification of autoclaving-cooling treatment to increase the resistant starch contents in food starches based on meta-analysis result. *Frontiers in Nutrition*, 9, 904700.
10. Phạm Cao Thăng, Phạm Minh Tuấn, Bùi Kim Thúy, Nguyễn Duy Lâm (2019). Thủy phân tinh bột gạo bằng enzym pullulanase để sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 1+2, 104 - 112.
11. Phạm Cao Thăng, Phạm Anh Tuấn, Nguyễn Duy Lâm (2024). Tối ưu hóa một số yếu tố công nghệ tiền xử lý bằng thủy phân enzyme pullulanase kết hợp quá trình thủy nhiệt để sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa RS3) từ nguyên liệu bột gạo. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 66(8), 57 - 63.
12. Megazyme (2017). Total dietary fiber assay procedure.
13. Eerlingen, R. C., Crombe, Mz., Delcour, J. A. (1992). Enzyme-Resistant starch. I. quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. *Cereal Chem*, 70(3), 339 - 344.
14. Budiyaniti, R. R *et al.* (2023). Effect of combining acid modification and heat-moisture treatment (HMT) on resistant starch content: A systematic review. *AIMS Agriculture and Food*, 8(2), 479 - 495.
15. Isra, M., Andrianto, D., & Setiarto, R. H. B. (2023). Effect heat moisture treatment for resistant starch levels and prebiotic properties of high carbohydrate food: Meta-analysis study. *Food Research*, 7(1), 144 - 150.
16. Zheng, Y., Wei, Z., Zhang, R., Deng, Y., Tang, X., Zhang, Y., Liu, G., Liu, L., Wang, J., Liao, N., Zhang, M. (2020). Optimization of the autoclave preparation process for improving resistant starch content in rice grains. *Food Sci Nutr*, 8, 2383 - 2394.

17. Chou, C., Wu, M., Nurtama, B., & Lin, J. (2010). Effects of different heating treatment and storage time on formation of resistant starch from potato starch. *Kasetsart Journal: Natural Science*, 44(5), 935 - 942.
18. Wardana, A. A., Hendry, & Surono, I. S. (2022). Effects of various cooling temperatures on resistant starch formation and pasting behaviour of autoclaved taro flour. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 998(1), 012053.
19. Nguyen, T. P., Rumpagaporn, P. & Songsermpong, S. (2023). Investigation of freezing temperature and time to improve resistant starch content and quality of pure mung bean starch vermicelli. *Australian Journal of Crop Science*, 17(9), 693 - 698.
20. Haynes, L., Gimmmler, N., Locke, J. P., Kweon, M. R., Slade, L., Levine, H. (2003). Enzyme-resistant starch for reduced calorie flour replacer. US patent 6.013.373.
21. Milasinovic, M.S., Radosavljevic, M. M., Dokic, L. P. (2010). Effects of autoclaving and pullulanase debranching on the resistant starch yield of normal maize starch. *J Serb Chem Soc* 75(4), 449 - 58
22. Sangwongchai, W., Sa-ingthong, N., Phothiset, S., Saenubon, C., Thitisaksakul, M. (2024). Resistant starch formation and changes in physicochemical properties of waxy and non-waxy rice starches by autoclaving-cooling treatment. *International Journal of Food Properties*, 27(1), 532 - 548.

**STUDY ON THE EFFECT OF CYCLIC HEAT-COOLING PROCESS COMBINED WITH
PULLULANASE ENZYME PRETREATMENT ON THE RESISTANT STARCH (RS3 SORT)
CONTENT FROM RICE FLOUR**

Pham Cao Thang¹, Pham Anh Tuan¹, Nguyen Duy Lam²

¹ *Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post Harvest Technology*

² *Nguyen Tat Thanh University (NTTU)*

Abstract

Resistant starch (RS), particularly type RS3, has been extensively reported to confer health benefits for gut function, support glycemic regulation, and reduce the risk of certain chronic diseases. However, the natural RS3 content in rice flour remains relatively low, necessitating the development of effective technological interventions to enhance its functional value. This study investigated the effects of cyclic heat-moisture treatment combined with prior enzymatic hydrolysis by pullulanase on the RS3 content of IR50404 rice flour. Experiments were conducted at steaming temperatures of 121 - 140°C for 30 - 120 minutes, with 1 - 4 treatment cycles, and cooling temperatures ranging from 2 - 50°C for 6 - 24 hours. The results demonstrated that steaming at 130°C for 60 minutes, combined with cooling at 4°C for 18 hours repeated over three cycles, significantly increased RS3 content. Moreover, cooling at 4°C produced higher RS3 levels than cooling at 2°C or 6°C, suggesting that this condition favors nucleation during crystalline structure formation. In addition, the temperature range of 121 - 140°C was identified as favorable for crystal growth in the RS3 formation process. Based on these findings, the study proposes a favorable temperature range for nucleation and crystal growth during RS3 formation, specifically 2°C < nucleation temperature < 6°C and 121°C < crystal growth temperature < 140°C.

Keywords: *Rice starch, resistant starch, heat-moisture treatment, modified starch.*

Ngày nhận bài: 15/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 20/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 29/7/2025

Ngày duyệt đăng: 7/8/2025

NGHIÊN CỨU XỬ LÝ BÃ ÉP NƯỚC CHUỐI ĐỂ SẢN XUẤT BỘT GIÀU CHẤT XƠ HÒA TAN ỨNG DỤNG TRONG CHẾ BIẾN THỰC PHẨM

Trần Thị Thu Hoài^{1,*}, Phạm Anh Tuấn¹, Nguyễn Quang Đức¹

¹*Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch*

** Email: thuhoavieaep@gmail.com*

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu nhằm xác định một số thông số công nghệ của quá trình thủy phân bằng Viscoenzyme L để biến tính bã ép nước chuối tạo bột giàu chất xơ có đặc tính chức năng phù hợp cho chế biến thực phẩm. Các thông số công nghệ tương ứng miền khảo sát gồm: Nồng độ enzyme (0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%) và thời gian thủy phân (30, 60, 90, 120 phút) ở cùng điều kiện nhiệt độ thủy phân 50°C. Kết quả thực nghiệm cho thấy, quá trình thủy phân bã ép nước chuối bằng Viscoenzyme L có hiệu quả làm giàu hàm lượng chất xơ hòa tan và cải thiện đặc tính chức năng của bột bã chuối. Cụ thể: Chế độ thủy phân bằng Viscoenzyme L thích hợp ở nồng độ 0,03%, nhiệt độ 50°C trong thời gian 60 phút, tương ứng hàm lượng chất xơ hòa tan (SDF) đạt mức cao nhất 1,36%, tỷ lệ IDF/SDF thấp nhất là 2,45, các đặc tính chức năng của bột bã chuối được cải thiện với khả năng giữ nước (WHC) đạt 6,34 g/g, khả năng hấp thu dầu (ORC) đạt 2,70 g/g và độ hòa tan (SI) đạt 0,88%. Kết quả thử nghiệm trên bánh quy cho thấy, bổ sung 10% bột bã ép chuối biến tính cho chất lượng bánh quy tốt nhất với: độ ẩm 7,48%, độ cứng 61,71 (g/mm²), WHC 4,93%, hệ số lan rộng 3,22 và chỉ số màu sắc L*, a*, b* có các giá trị tương ứng 62,81; 6,58; 32,44.

Từ khóa: Bã chuối, chất xơ, chất xơ hòa tan, Viscozyme L.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất xơ thực phẩm (DF) là các polyme carbohydrate ăn được có ba hoặc nhiều đơn vị monome và kháng các enzyme tiêu hóa nội sinh trong ruột. Do đó, chúng không bị thủy phân hoặc hấp thụ ở đường tiêu hóa trên [1]. Dựa vào đặc điểm vật lý, có hai loại DF là chất xơ không hòa tan IDF (gồm lignin, cellulose và một số hemicellulose) và chất xơ hòa tan SDF (gồm pectin, inulin, fructooligosaccharides và gum). Lợi ích của chất xơ thực phẩm: (i) Đối với sức khỏe, IDF có tính trợ về mặt chuyển hóa, chống lại quá trình lên men ở ruột kết, giảm quá trình vận chuyển trong ruột, ức chế enzyme lipase tuyến tụy và giải độc ở đường tiêu hóa; SDF giúp giảm đường huyết, cholesterol trong máu, cải thiện tình trạng táo bón [2]; (ii) Đối với ứng dụng trong thực phẩm, SDF cải thiện cấu trúc và hương vị của sản phẩm; IDF ảnh hưởng không tốt đến màu sắc, cấu trúc và hương vị của sản phẩm. Tuy nhiên, chất xơ trong các sản phẩm có nguồn gốc thực vật chủ yếu là

IDF và chiếm khoảng 70 - 88% khối lượng [3]. Do vậy, việc sử dụng công nghệ biến tính nhằm chuyển một phần IDF thành SDF để cải thiện các đặc tính lý hóa và chức năng của chất xơ là cần thiết.

Hiện có nhiều nghiên cứu đã công bố về biến tính chất xơ theo các phương pháp khác nhau. Trong đó, phương pháp sinh học sử dụng các enzyme (chủ yếu là xylanase, cellulase và lignin oxidase) để thủy phân chất xơ thực phẩm, từ đó làm giảm IDF, cải thiện SDF và là giải pháp rất thân thiện với môi trường [4]. Viscozyme L là sự kết hợp của các enzyme arabinase, cellulase, β -glucanase, hemicellulase và xylanase, tác dụng trực tiếp vào liên kết β -1,4-glycosidic của chất xơ thực phẩm và cắt các phân tử chuỗi dài thành nhiều phân tử nhỏ hơn [5]. Ứng dụng Viscozyme L trên các sản phẩm thực phẩm khác nhau cho thấy: (i) Quá trình chuyển đổi IDF thành SDF: Viscozyme L (nồng độ 2,38 mL/100 mL ở 55°C trong 30 phút) làm tăng hàm lượng SDF trong quả

chà từ 1,8 g/100 g lên 6,3 g/100 g và giảm tỷ lệ IDF/SDF từ 19,65 xuống còn 2,46 [4]; (ii) Cải thiện cấu trúc và đặc tính lý hóa của DF: Khả năng giữ nước (WHC) tăng và đạt 4,22 g/g khi thủy phân IDF trong bã nhân sâm bằng 0,035 ml Viscozyme L/100 ml ở 50°C trong 90 phút [5]; Độ hòa tan (SI) tăng 13,76% với thân súp lơ xanh và 24,28% phụ phẩm sản xuất xi-rô từ quả đậu sau khi thủy phân bằng Viscozyme L (45°C, pH 4,5 ở nồng độ 0,45% trong 24 giờ) [6]. Tỷ lệ SDF/IDF trong thực phẩm nên nằm trong khoảng 1 - 2, 3 [4].

Chuối chủ yếu tiêu thụ dạng tươi (95%) chỉ khoảng 5% chuối dùng trong chế biến. Thịt quả chuối chín chứa 6,28 - 15,5% tổng chất xơ thực phẩm, trong đó SDF chiếm 0,7 - 5,31%, và IDP chiếm 4,10 - 12,56% bao gồm: Cellulose, hemicellulose và lignin [7 - 9]. Phụ phẩm chế biến nước ép chuối là bã chuối có hàm lượng DF cao. Với nhu cầu ngày càng tăng về thực phẩm giàu chất xơ, việc tái chế phụ phẩm nông nghiệp như bã ép nước chuối không chỉ giúp giảm chất thải mà còn mang lại giá trị dinh dưỡng cao cho các sản phẩm thực phẩm. Mặc dù đã có nghiên cứu về biến tính chất xơ bằng enzyme, nhưng ứng dụng Viscozyme L trên bã ép nước chuối chưa được đề cập nhiều, đặc biệt trong sản xuất bột giàu chất xơ hòa tan.

Trong phạm vi nghiên cứu này tiến hành thực nghiệm quá trình thủy phân bã ép chuối bằng Viscozyme L nhằm làm giàu hàm lượng chất xơ hòa tan, cải thiện đặc tính chức năng của bột bã ép chuối và ứng dụng trong sản xuất bánh quy.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Chuối tiêu hồng được trồng tại huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên, thu hoạch vào thời điểm từ 80 - 85 ngày ở độ chín 1 (vỏ quả có màu xanh đậm) được xác định theo thang màu 1 - 7 [10], thời điểm lấy mẫu vào tháng 9 - 11/2024.

Bột mì số 8 hiệu SPIII (do Abby phân phối), bơ lạt Allowrie hàm lượng chất béo 82% (Thái Lan), đường xay Biên Hòa (Việt Nam).

Chế phẩm enzyme Pectinaza Ultra SP-L (26,000 PG/ml) từ nấm *Aspergillus aculeatus* và Viscozyme L (100 FBG/g) của Công ty Novozymes, Đan Mạch.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị bã ép nước chuối

Nguyên liệu chuối → Xử lý khí ethylene (100 ppm trong 24 giờ) → Gia nhiệt chuối nguyên quả bằng hơi nước 86,4°C trong 3,1 phút → Bóc vỏ → Xay trong môi trường MA (khí N₂) → Bổ sung axit ascorbic 0,06%, axit citric điều chỉnh về pH 4,3 → Lạnh đông (- 30°C trong 24 giờ) → Rã đông → Thủy phân bằng enzyme pectinase Utral SP - L (nồng độ 0,03% ở 50°C trong 180 phút) → Vô hoạt enzyme ở 90°C trong 5 phút → Siêu âm ở công suất 2 W/g trong 6 phút → Ly tâm tách nước chuối nguyên chất → Bã ép nước chuối. Các mẫu bã ép nước chuối được chia đều vào các túi polyethylene (100 g/mẫu) và bảo quản ở (- 20°C) chuẩn bị cho các thí nghiệm [11].

2.2.2. Thực nghiệm ảnh hưởng của quá trình thủy phân bã ép nước chuối bằng Viscozyme L

Tiến hành 2 nhóm thực nghiệm gồm: (i) 4 thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ Viscozyme L với 4 mức (0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%) ở cùng thời gian 90 phút; (ii) 4 thí nghiệm ảnh hưởng của thời gian thủy phân với 4 mức (30, 60, 90, 120 phút) ở cùng nồng độ được rút ra từ thí nghiệm (i) và 1 thí nghiệm đối chứng không thủy phân enzyme. Các mức này được chọn dựa trên nghiên cứu sơ bộ và tài liệu tham khảo [4, 5]. Điều kiện chung của 2 nhóm thí nghiệm được thủy phân ở nhiệt độ 50°C, tốc độ khuấy 75 vòng/phút và tương ứng khối lượng 100 g/mẫu. Kết thúc quá trình thủy phân, các mẫu được gia nhiệt ở 100°C trong 10 phút để vô hoạt enzyme, sau đó được sấy khô ở 60°C đến độ ẩm < 5%. Chỉ tiêu đánh giá của các thí nghiệm gồm: Hàm lượng chất xơ tổng, hàm lượng chất xơ hòa tan, khả năng giữ nước, độ hòa tan và khả năng hấp thụ dầu.

2.2.3. Thử nghiệm bổ sung bột bã ép nước chuối trong sản xuất bánh quy

Nguyên liệu thử nghiệm sản xuất bánh quy có bổ sung bột bã ép nước chuối gồm các thành phần chính sau: Bột mì 130 g, bơ 40 g, đường 40 g, lòng trắng trứng 45 g và bột bã ép nước chuối với các tỷ lệ khác nhau (0%, 5%, 10% và 15% theo khối lượng bột mì). Các thông số được chọn dựa trên nghiên cứu sơ bộ và tài liệu tham khảo [12]. Bột nhào

được trộn trong 10 phút, sau đó để ổn định ở 4°C trong 10 phút, tiếp theo cán mỏng 3 mm, cắt thành từng miếng tròn (đường kính 20 mm), đặt trên khay và nướng ở 180°C/5 phút sau đó giảm nhiệt nướng ở 160°C/6 phút. Bánh quy được làm nguội trong 20 phút ở nhiệt độ phòng và đóng túi polyethylene. Chỉ tiêu đánh giá: Đặc tính của bánh quy (độ ẩm, độ cứng, khả năng giữ nước, màu sắc, hệ số lan rộng) và đánh giá cảm quan bánh quy.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định độ ẩm, pH, hàm lượng chất xơ của bột ép nước chuối và bánh quy

- Xác định độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy khô ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi.

- pH theo TCVN 7806:2007 [13].

- Hàm lượng chất xơ tổng và chất xơ hòa tan theo AOAC 991.43 [14].

2.3.2. Phương pháp phân tích đặc tính của bột bã chuối và bánh quy

- Xác định khả năng giữ nước (WHC) dựa theo Jia và cs (2020) [12]

Mẫu (0,5 g) cho vào ống ly tâm, cân ống đựng mẫu (m₁). Sau đó, dùng pipet thêm 10 mL nước cất và cân bằng ở 37°C trong 1 giờ. Sau khi ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 15 phút (Máy ly tâm rototix 32a, Đức), cân được cân (khối lượng ướt w_w) và sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi (khối lượng khô w_d). WHC được tính theo công thức:

$$WHC (g/g) = (W_w - W_d) / W_d$$

- Độ hòa tan (SI) của bột bã chuối dựa theo Ayuso và cs (2024) [6]

Cân 0,5 g mẫu vào ống palcol 50 ml và trộn với 50 mL nước trong 5 phút. Dung dịch được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/ phút trong 5 phút. Lấy 12,5 mL chất lỏng thu được vào các đĩa Petri đã cân và sấy khô ở 100°C trong 5 giờ. Mỗi lần xử lý được thực hiện ba lần cho mỗi chiết xuất. Độ hòa tan (%) tính theo độ chênh lệch khối lượng:

SI % = [khối lượng mẫu sau sấy (g) x 4]/khối lượng mẫu ban đầu (g)

- Khả năng hấp thụ dầu (ORC) của bột bã chuối dựa theo Jagelavičiūtė và cs (2025) [15].

Trộn 0,2 g mẫu với 2 g dầu hướng dương và để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm ở 4.000 vòng/ phút trong 10 phút, sau đó rót phần dầu chưa hấp thụ ra, thu hồi và cân mẫu. ORC được tính theo công thức sau: ORC (g/g) = $(W_1 - W_0) / W_0$ trong đó W_1 là khối lượng của mẫu sau khi đã hấp thụ dầu (g), W_0 là khối lượng của mẫu khô (g).

- Hệ số lan rộng (SF) của bánh dựa theo Mai và cs (2022) [16]

Hệ số lan rộng là tham số đánh giá khả năng nở của bánh quy [17] và được tính theo công thức: SF = D/T. Trong đó: Đường kính (D): Đặt 6 bánh quy nằm sát mép nhau thành hàng ngang, đo chiều dài hàng bánh bằng thước kẹp, các mẫu bánh được xoay 90° sau một lần đo và lấy giá trị trung bình. Độ dày (T): Đặt 6 bánh quy xếp chồng lên nhau, dùng thước kẹp đo xác định độ dày tổng số của 6 chiếc bánh quy sau đó chia 6 để tính độ dày trung bình của một chiếc bánh quy.

- Phân tích cấu trúc (TPA) dựa theo Jia và cs (2020) [12]

Phân tích cấu trúc (TPA) của bánh quy bằng thiết bị đo (CTX Brookfield, Hoa Kỳ). Trong đó xác định độ cứng của bánh quy bằng giá trị khối lượng (g) tác động trên đơn vị diện tích đầu đo đường kính 4 mm (quy đổi từ nguyên g/mm²) với tốc độ di chuyển của đầu đo là 2,0 mm/giây, mỗi phép đo được thực hiện 3 lần lấy giá trị trung bình.

- Màu sắc

Đo màu bằng máy đo màu cầm tay Konica Minolta CR-400, xác định các chỉ số L* (độ sáng), a* (từ xanh lá cây sang đỏ) và b* (từ xanh lá cây sang vàng).

2.4. Đánh giá cảm quan sản phẩm bánh quy dựa theo H N Ramya và cs (2020) [18]

Đánh giá cảm quan các mẫu bánh quy được bổ sung bột bã ép nước chuối ở các tỷ lệ khác nhau bởi 15 thành viên đã được huấn luyện trong điều kiện phòng thí nghiệm, ở nhiệt độ môi trường bằng thang điểm 9 Hedonic (9 - Vô cùng thích, 8 - rất thích, 7 - tương đối thích, 6 - hơi thích, 5 -

không thích cũng không ghét, 4 - hoàn toàn không thích, 3 - không thích lắm, 2 - tương đối không thích, 1 - tuyệt đối không thích). Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng cảm quan bao gồm màu sắc, mùi, vị, cấu trúc, trạng thái và khả năng chấp nhận chung của các mẫu bánh quy.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi điều kiện thí nghiệm được thực hiện ba lần lặp lại ($n = 3$). Số liệu được xử lý bằng excel và phần mềm SPSS 27, phân tích ANOVA (kiểm định Duncan mức ý nghĩa 5%).

Bảng 1. Hàm lượng chất xơ và đặc tính của bột bã ép nước chuối ở các nồng độ Viscoenzyme L khác nhau

Chỉ số	ĐC	0,02%	0,03%	0,04%	0,05%
Hàm lượng xơ tổng DF (%)	4,73 ^c ± 0,004	4,70 ^d ± 0,007	4,68 ^c ± 0,008	4,61 ^b ± 0,005	4,55 ^a ± 0,004
Hàm lượng xơ hòa tan SDF (%)	1,17 ^a ± 0,001	1,19 ^b ± 0,003	1,25 ^c ± 0,006	1,23 ^d ± 0,004	1,20 ^e ± 0,010
Hàm lượng xơ không hòa tan IDF (%)	3,56 ^e ± 0,002	3,51 ^d ± 0,004	3,43 ^c ± 0,005	3,38 ^b ± 0,001	3,34 ^a ± 0,003
IDF/SDF	3,04 ^c ± 0,002	2,95 ^b ± 0,005	2,75 ^a ± 0,013	2,75 ^a ± 0,009	2,78 ^a ± 0,031
<i>Đặc tính của bột</i>					
Khả năng giữ nước WHC (g/g)	4,92 ^b ± 0,139	5,41 ^d ± 0,117	5,86 ^e ± 0,118	5,18 ^c ± 0,044	4,04 ^a ± 0,006
Khả năng hấp thụ dầu ORC (g/g)	1,15 ^a ± 0,015	1,65 ^c ± 0,028	1,85 ^d ± 0,013	1,60 ^b ± 0,018	1,60 ^b ± 0,02
Độ hòa tan SI (%)	0,8 ^a ± 0,016	0,82 ^a ± 0,028	0,90 ^b ± 0,007	0,96 ^c ± 0,052	0,96 ^c ± 0,03

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có nghĩa ($p < 0,05$); ĐC là mẫu bã ép nước chuối không xử lý enzyme

Khi tăng nồng độ enzyme thủy phân từ 0,02 - 0,05% cho kết quả hàm lượng DF tổng có xu hướng giảm từ 4,70% xuống còn 4,55% (so với mẫu ĐC 4,73%). Trong khi, hàm lượng SDF có xu hướng tăng từ 1,19 - 1,25% khi nồng độ enzyme tăng 0,02 - 0,03%, tiếp tục tăng nồng độ enzyme từ 0,03 - 0,05% thì hàm lượng SDF có xu hướng giảm từ 1,25% xuống 1,20%. Kết quả tương tự cũng được báo cáo bởi Mrabet và cs (2017) với thịt quả chà là [4] và Jagelavičiūtė và cs (2025) với bột bã táo [15]. Điều này có thể giải thích là do một phần IDF chuyển thành SDF bởi quá trình thủy phân bằng enzyme, làm tăng hàm lượng SDF nhưng SDF cũng có thể bị thủy phân một phần thành các mảnh nhỏ hơn

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thực nghiệm ảnh hưởng của quá trình thủy phân bằng enzyme Viscoenzyme L đến hàm lượng các chất xơ trong bã ép nước chuối

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme thủy phân

Kết quả thực nghiệm ảnh hưởng của nồng độ Viscoenzyme L đến hàm lượng chất xơ và đặc tính của bột bã ép nước chuối được thể hiện ở bảng 1.

không kết tủa với etanol nóng trong quá trình phân lập chất xơ [4]. Tỷ lệ IDF/SDF giảm từ 3,04 xuống 2,75 tùy thuộc vào nồng độ enzyme thủy phân.

Kết quả ở nồng độ 0,03% đạt SDF cao nhất (1,25%), đạt WHC cao nhất 5,86 g/g, tương tự với nghiên cứu của Jiang và cs (2024) [5], đạt WHC 4,22 g/g trên bã nhân sâm, cho thấy, Viscozyme L hiệu quả trong việc phá vỡ liên kết glycosidic; giá trị ORC cao nhất là 1,85 g/g; độ hòa tan SI phản ánh sự phân hủy DF đạt 0,90% và xu hướng tăng giá trị SI cũng được chỉ ra bởi Jagelavičiūtė và cs (2025) [15], khi thủy phân bột bã táo bằng Viscozyme L.

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Kết quả thực nghiệm ảnh hưởng của thời gian thủy phân bằng Viscoenzyme L đến hàm lượng

chất xơ và đặc tính của bột bã ép nước chuối được thể hiện ở bảng 2.

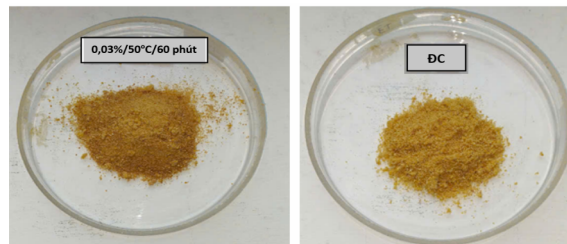
Bảng 2. Hàm lượng chất xơ và đặc tính của bột bã ép nước chuối ở các thời gian thủy phân khác nhau

Chỉ số	Thời gian thủy phân bằng Viscoenzyme L (phút)			
	30	60	90	120
Hàm lượng xơ tổng DF (%)	4,71 ^c ± 0,002	4,70 ^c ± 0,004	4,68 ^b ± 0,008	4,48 ^a ± 0,003
Hàm lượng xơ hòa tan SDF (%)	1,21 ^b ± 0,003	1,36 ^d ± 0,006	1,25 ^c ± 0,006	1,13 ^a ± 0,004
Hàm lượng xơ không hòa tan IDF (%)	3,50 ^d ± 0,002	3,34 ^a ± 0,009	3,44 ^c ± 0,006	3,35 ^b ± 0,002
IDF/SDF	2,89 ^c ± 0,008	2,45 ^a ± 0,016	2,75 ^b ± 0,013	2,97 ^d ± 0,012
<i>Đặc tính của bột</i>				
Khả năng giữ nước WHC (g/g)	6,22 ^c ± 0,056	6,34 ^c ± 0,185	5,83 ^b ± 0,044	5,15 ^a ± 0,046
Khả năng hấp thụ dầu ORC (g/g)	1,95 ^c ± 0,01	2,70 ^d ± 0,013	1,85 ^b ± 0,028	1,80 ^a ± 0,023
Độ hòa tan SI (%)	0,83 ^a ± 0,017	0,88 ^b ± 0,008	0,90 ^c ± 0,02	0,91 ^c ± 0,003

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có nghĩa ($p < 0,05$).

Bảng 2 cho thấy, khi thời gian thủy phân tăng từ 30 - 120 phút thì hàm lượng DF tổng giảm từ 4,71% xuống còn 4,48%. Trong khi, hàm lượng SDF có xu hướng tăng từ 1,21% lên 1,36% khi thời gian thủy phân tăng từ 30 đến 60 phút. Tiếp tục tăng thời gian thủy phân hàm lượng SDF có xu hướng giảm và giá trị thấp nhất sau 120 phút (1,13%). Thời gian 60 phút đạt SDF cao nhất (1,36%), phù hợp với nghiên cứu của Dai và cs (2017), cho rằng, thời gian thủy phân dài có thể làm giảm SDF do phân hủy quá mức [19]; tỷ lệ IDF/SDF giảm còn

2,45 và giá trị này gần với giá trị tối ưu (1 - 2,3) có lợi cho sức khỏe [4]; giá trị SI đạt 0,88%; WHC và ORC đạt cao nhất lần lượt 6,34 g/g và 2,70 g/g tương tự với nghiên cứu bột măng của Zhang và cs (2023), hàm lượng DF tổng và SDF cao thì khả năng giữ nước (4,17 g/g) và giữ dầu (0,89 g/g) cao [20]. Điều này có thể vì DF chứa một số lượng lớn các nhóm ưa nước như nhóm cacboxyl và nhóm hydroxyl dễ dàng hình thành liên kết hydro với các phân tử nước do đó làm tăng sự hấp thụ và thẩm thấu nước [20].



Hình 1. Hình ảnh bột bã ép nước chuối

Kết quả thực nghiệm cho thấy, quá trình thủy phân bằng Viscoenzyme L ở nồng độ 0,03%, nhiệt độ 50°C trong 60 phút thì hàm lượng SDF đạt mức cao nhất 1,36%, tỷ lệ IDF/SDF là thấp nhất (2,45); tương ứng với các đặc tính của bột bã chuối cao nhất WHC

(6,34 g/g), ORC (2,70 g/g) và SI (0,88%), mẫu bột bã chuối được sử dụng cho thử nghiệm bổ sung trong thành phần sản xuất bánh quy.

3.2. Kết quả thử nghiệm ứng dụng bột bã ép chuối trong chế biến bánh quy

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bã ép chuối bổ sung đến đặc tính của bánh quy

Công thức	ĐC	5%	10%	15%
Khả năng giữ nước (g/g)	3,63 ^a ± 0,03	4,78 ^b ± 0,024	4,93 ^c ± 0,026	5,13 ^d ± 0,014
Độ ẩm (%)	6,26 ^a ± 0,025	6,57 ^b ± 0,04	7,48 ^c ± 0,055	8,07 ^d ± 0,025
Độ cứng (g/mm ²)	88,30 ^a ± 3,899	73,38 ^b ± 0,191	61,71 ^c ± 1,5	43,15 ^d ± 0,267

Kích thước				
Đường kính D (mm)	25,93 ^a ± 2,126	29,02 ^b ± 0,350	28,68 ^b ± 0,317	28,68 ^b ± 0,350
Độ dày T (mm)	9,82 ^c ± 0,139	7,57 ^a ± 0,204	8,90 ^b ± 0,034	8,72 ^b ± 0,189
Hệ số lan rộng D/T	2,64 ^a ± 0,213	3,84 ^d ± 0,066	3,22 ^b ± 0,029	3,29 ^c ± 0,109
Màu sắc				
L*	66,99 ^d ± 1,843	56,81 ^b ± 0,151	62,81 ^c ± 0,76	51,46 ^a ± 0,403
a*	4,16 ^a ± 0,454	9,54 ^c ± 0,452	6,58 ^b ± 0,727	7,16 ^b ± 0,255
b*	31,76 ^b ± 0,275	35,69 ^c ± 0,34	32,44 ^b ± 0,166	29,62 ^a ± 0,811

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có nghĩa ($p < 0,05$)

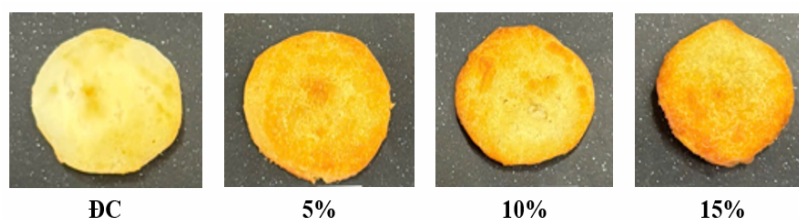
Bảng 3 cho thấy: Khả năng giữ nước WHC và độ ẩm của bánh quy có xu hướng tăng, độ cứng của bánh quy có xu hướng giảm khi tỷ lệ bột bã ép nước chuối bổ sung tăng từ là 0%, 5%, 10% và 15%. Cụ thể: WHC của bánh quy tăng tương ứng 4,78%; 4,93%; 5,13% với tỷ lệ 5%, 10% và 15% và cao hơn so với đối chứng (3,63%). Zhou và cs (2021) cho rằng, khả năng hấp thụ nước sẽ tăng lên đối với các công thức có bổ sung chất xơ [21] và ảnh hưởng đến đặc tính cấu trúc của bánh quy [12].

Độ cứng của bánh quy ở mỗi tỷ lệ bổ sung giảm đáng kể ($p < 0,05$) so với mẫu bánh quy đối chứng và tương ứng với sự tăng độ ẩm của bánh quy. Kết quả này tương đồng với kết quả của Jia và cs (2019) khi bổ sung chất xơ hòa tan từ cám gạo vào bánh quy [12]. Chất xơ có khả năng liên kết nước và giữ nước trong sản phẩm trong quá trình nướng, do đó các sản phẩm có bổ sung chất xơ mềm hơn so với đối chứng [12].

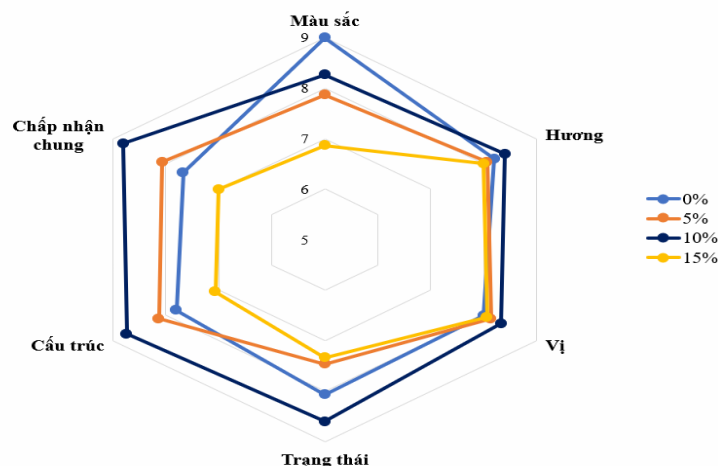
Đường kính, độ dày, hệ số lan rộng của bánh quy: Đường kính của các mẫu bánh quy có bổ sung bột bã ép nước chuối 5%, 10% và 15% đều cho kết quả tăng so với mẫu ĐC, tuy nhiên giữa các mẫu có bổ sung bột bã ép thì không có sự khác biệt về mặt thống kê; độ dày của bánh quy giảm rõ rệt và mức giảm ít nhất là 9,36% ở tỷ lệ bổ sung 10% so với mẫu ĐC; hệ số lan rộng của bánh quy có sự khác biệt giữa các mẫu và tăng so với mẫu ĐC. Kết

quả này phù hợp với nghiên cứu của Cheng và Bhat (2016) và hệ số này càng nhỏ thì khả năng nở của bánh quy càng cao [16]. Ngoài ra, chất xơ hoạt động như chất ổn định hỗn hợp bột bánh quy, ở mức bổ sung lên đến 10%, cải thiện cấu trúc và đường kính bánh quy giữ nguyên trong quá trình nướng [22]. Theo Grenier và cs (2021) khi thử nghiệm bổ sung bột vỏ mít vào bánh quy cũng cho thấy, liên kết nước cao làm giảm khả năng nở của bánh quy trong quá trình nướng [23].

Màu sắc của bánh quy: Khi tỷ lệ bổ sung bột bã ép nước chuối tăng từ 0 - 15%, độ sáng (L) của các mẫu bánh quy giảm đáng kể so với mẫu ĐC (Bảng 3 và hình 2). Ở tỷ lệ bổ sung 10%, giá trị L* giảm thấp nhất 6,25% so với giá trị của mẫu ĐC. Điều này cho thấy rằng, tỷ lệ bổ sung bột bã ép nước chuối vào bánh quy càng nhiều, bánh quy càng sẫm màu. Xu hướng tương tự đã được báo cáo bởi Cheng và Bhat (2016), khi bổ sung bột đậu đen vào bánh quy, bánh quy có màu sẫm hơn [17]. Về độ đỏ (a*) và độ vàng (b*), các giá trị dao động tương ứng từ 6,58 - 9,54 và 29,62 - 35,69. Với mẫu bánh quy ĐC được làm từ 100% bột mì cho thấy, giá trị thấp nhất ở cả a* và b*. Ngoài ra, những thay đổi về màu sắc của bánh quy có thể liên quan đến phản ứng Maillard giữa đường khử và axit amin gây ra màu nâu và nguyên nhân caramen hóa đường khiến bánh quy đổi màu [17].



Hình 2. Hình ảnh của bánh quy ở các tỷ lệ bổ sung bột bã ép nước chuối khác nhau



Hình 3. Biểu đồ thể hiện kết quả đánh giá cảm quan của bánh quy ở các tỷ lệ bổ sung bột bã ép nước chuối /bột mỳ

Kết quả đánh giá cảm quan ở hình 3 cho thấy, tỷ lệ bã ép nước chuối bổ sung 5%, 10% và 15% ảnh hưởng đáng kể đến các thông số cảm quan của các mẫu bánh quy. Màu sắc bánh quy trở nên sẫm hơn và cấu trúc bánh quy mềm hơn. Hương và vị không có sự khác biệt rõ rệt giữa các mẫu bánh quy. Với tỷ lệ bổ sung 15% độ ẩm của bánh quy cao nhất, bánh mềm và bên trong bánh có màu sẫm, do đó có điểm chấp nhận chung thấp nhất (7,0). Ở tỷ lệ bổ sung 10% điểm chấp nhận chung và điểm cấu trúc của bánh quy đạt mức cao nhất lần lượt 8,80 và 8,73.

Từ kết quả thử nghiệm cho thấy, việc bổ sung bột bã ép nước chuối ở các tỷ lệ khác nhau ảnh hưởng đáng kể đến các đặc tính cơ lý và thuộc tính cảm quan của bánh quy. Mẫu bánh quy bổ sung 10% bột bã ép nước chuối có điểm trung bình cao nhất với các chỉ tiêu chất lượng gồm: Độ ẩm 7,48%, độ cứng 61,71 (g/mm²), WHC 4,93 %, hệ số lan rộng 3,22 và màu sắc chỉ số L*, a*, b* (62,81; 6,58; 32,44).

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, quá trình thủy phân bã ép nước chuối bằng enzyme Viscoenzyme L là có hiệu quả làm giàu hàm lượng chất xơ hòa tan và cải thiện đặc tính chức năng của bột bã chuối. Chế độ công nghệ thủy phân thích hợp ở nồng độ 0,03%, nhiệt độ 50°C trong thời gian 60 phút, tương ứng hàm lượng SDF đạt mức cao nhất 1,36%, tỷ lệ IDF/SDF thấp nhất (2,45); với các đặc tính chức năng của bột bã chuối về khả năng giữ

nước WHC (6,34 g/g), khả năng hấp thu dầu ORC (2,70 g/g) và độ hòa tan SI (0,88%). Kết quả thử nghiệm ban đầu sử dụng bột bã chuối biến tính bổ sung 10% trong thành phần bột sản xuất bánh quy cho chất lượng sản phẩm tốt nhất với các chỉ tiêu đánh giá: Độ ẩm 7,48%, độ cứng 775,10 (g), WHC 4,93%, hệ số lan rộng 3,22 và màu sắc đạt chỉ số L*, a*, b* (62,81; 6,58; 32,44).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cui, J., Lian, Y., Zhao, C., Du, H., Han, Y., Gao, W., ... & Zheng, J. (2019). Dietary fibers from fruits and vegetables and their health benefits via modulation of gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1514 - 1532.
2. He, B., Nohara, K., Ajami, N. J., Michalek, R. D., Tian, X., Wong, M., ... Chen, Z. (2015). Transmissible microbial and metabolomic remodeling by soluble dietary fiber improves metabolic homeostasis. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep10604.
3. Huang, Y. L., & Ma, Y. S. (2016). The effect of extrusion processing on the physiochemical properties of extruded orange pomace. *Food Chemistry*, 192, 363 - 369. doi:10.1016/j.foodchem.2015.07.
4. Mrabet, A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rubio-Senent, F., Hamza, H., Rodríguez-Arcos, R., Guillén-Bejarano, R., ... & Jiménez-Araujo, A. (2017). Enzymatic conversion of date fruit fiber

concentrates into a new product enriched in antioxidant soluble fiber. *Lwt*, 75, 727 – 734.

5. Jiang, G., Ameer, K., Ramachandraiah, K., Feng, X., Tan, C., & Cai, N. (2024). Effects of synergistic application of Viscozyme L-wet ball milling on structural, physicochemical and functional properties of insoluble dietary fiber from ginseng residue. *LWT*, 209, 116777.

6. Ayuso, P., Peñalver, R., Quizhpe, J., Rosell, M. D. L. Á., & Nieto, G. (2024). Broccoli, artichoke, carob and apple by-products as a Source of soluble fiber: How it can be affected by enzymatic treatment with Pectinex® Ultra SP-L, Viscozyme® L and Celluclast® 1.5 L. *Foods*, 14(1), 10 - 16.

7. Da Mota, R. V., Lajolo, F. M., Cordenunsi, B. R., & Ciacco, C. (2000). Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch - Stärke*, 52(2 - 3), 63 - 68.

8. Chaipai, S., Kriangsinyot, W., & Srichamnong, W. (2018). Effects of ripening stage and cooking methods on available glucose, resistant starch and estimated glycemic index of bananas (*Musa sapientum*; Nam-wa variety). *Malaysian Journal of Nutrition*, 24(2), 269 - 279.

9. Suvarna R. Bhadane, Vishal R. Parate, Mohammed I. Talib (2019). Development of ripe banana powder and it's fortification in milkshake. *International Journal of Management, Technology And Engineering*, 9(1), 1140 - 1145.

10. Junlakan, W. (2014). Effect drying kinetics on the quality of vacuum-dried banana, pineapple and apple slices. Doctoral dissertation, Prince of Songkla University.

11. Trần Thị Thu Hoài, Phạm Anh Tuấn, Lê Hà Hải (2023). Nghiên cứu một số yếu tố công nghệ ảnh hưởng đến quá trình tách chiết nước chuối trong từ chuối tiêu hồng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 12, 69 - 79.

12. Jia, M., Yu, Q., Chen, J., He, Z., Chen, Y., Xie, J., ... & Xie, M. (2020). Physical quality and in vitro starch digestibility of biscuits as affected by addition of soluble dietary fiber from defatted rice bran. *Food Hydrocolloids*, 99, 105349.

13. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 7806:2007 (ISO 1842:1991). Sản phẩm rau quả - Xác định độ pH.

14. AOAC 991.43 Total, Soluble, and Insoluble dietary fiber in foods. Enzymatic-Gravimetric Method, MES-TRIS Buffer.

15. Jagelavičiūtė, J., Čižeikienė, D., & Bašinskienė, L. (2025). Enzymatic modification of apple pomace and its application in conjunction with probiotics for jelly candy production. *Applied sciences*, 15(2), 1 - 17.

16. Mai, T. T. N., Quynh, H. P., & Uyen, N. T. N. (2022). Nghiên cứu sự ảnh hưởng của chế độ sấy và hàm lượng bột từ hạt đậu đen (*Vigna cylindrica*) nảy mầm để sản xuất bánh quy giàu GABA. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 65B(1), 61 - 66.

17. Cheng, Y. F., & Bhat, R. (2016). Functional, physicochemical and sensory properties of novel cookies produced by utilizing underutilized jering (*Pithecellobium jiringa* Jack.) legume flour. *Food Bioscience*, 14, 54 - 61.

18. Ramya, H. N., Anitha, S., & Ashwini, A. (2020). Nutritional and sensory evaluation of jackfruit rind powder incorporated with cookies. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(11), 3305 - 3312.

19. Dai, F. J., & Chau, C. F. (2017). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of food and drug analysis*, 25(1), 37 - 42.

20. Zhang, W., Wang, S., & Lan, M. (2023). Comparison of physicochemical properties of three types of bamboo shoot powders. *Food Science and Technology*, 43, e119522.

21. Zhou, Y., Dhital, S., Zhao, C., Ye, F., Chen, J., & Zhao, G. (2021). Dietary fiber - gluten protein interaction in wheat flour dough: Analysis, consequences and proposed mechanisms. *Food Hydrocolloids*, 111, 106203.

22. Brennan, C. S., & Samyue, E. (2004). Evaluation of starch degradation and textural characteristics of dietary fiber enriched biscuits. *International Journal of food properties*, 7(3), 647 - 657.

23. Grenier, D., Rondeau-Mouro, C., Dedey, K. B., Morel, M. H., & Lucas, T. (2021). Gas cell opening in bread dough during baking. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 482 - 498.

STUDY ON PROCESSING OF PRESSED BANANA PULP FOR PRODUCING SOLUBLE FIBER-RICH POWDER APPLIED IN FOOD PROCESSING**Tran Thi Thu Hoai¹, Pham Anh Tuan¹, Nguyen Quang Duc¹**¹ *Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post Harvest Technology***Abstract**

The purpose of this experimental study is to determine some technological parameters of the hydrolysis process using Viscoenzyme L to modify banana pulp into soluble fiber-rich powder and improve its functional properties suitable for food processing. The corresponding technological parameters investigated include enzyme concentration (0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%) and hydrolysis time (30, 60, 90, 120 minutes) at the same hydrolysis temperature of 50°C. The experimental results show that the hydrolysis of banana pulp using Viscoenzyme L is effective in enriching the soluble fiber content and improving the functional properties of banana pulp powder. The appropriate hydrolysis conditions are at a concentration of 0.03%, a temperature of 50°C for 60 minutes, corresponding to a high level of soluble dietary fiber (SDF). The hydrolysis technology regime is suitable at a concentration of 0.03%, a temperature of 50°C for 60 minutes, corresponding to the highest soluble dietary fiber (SDF) content of 1.36%, and the lowest IDF/SDF ratio of 2.45. The functional properties of the modified banana peel powder are improved, with water holding capacity (WHC) reaching 6.34 g/g, oil absorption capacity (ORC) at 2.70 g/g, soluble index (SI) at 0.88%. The initial test results using modified banana peel powder supplemented with 10% in the cookie dough formulation yielded the best product quality with: moisture content of 7.48%, hardness of 61.71 (g/mm²), WHC of 4.93%, spread ratio of 3.22, and color indices L*, a*, b* (62.81; 6.58; 32.44).

Keywords: *Banana grounds, fiber, soluble fiber, Viscozyme L.***Ngày nhận bài:** 11/05/2025**Ngày chuyển phản biện:** 7/6/2025**Ngày thông qua phản biện:** 11/7/2025**Ngày duyệt đăng:** 30/7/2025

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT DẦU VÀ HỢP CHẤT GIÀU PICEATANNOL TỪ HẠT CHANH LEO TÍM (*Passiflora edulis Sims.*)

Bùi Kim Thúy^{1,*}, Phạm Thị Mai¹,

Lê Thị Thanh Thủy¹, Phạm Minh Tuấn¹, Nguyễn Duy Lâm²

¹ Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

² Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

* Email: bkthuy75@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định những điều kiện thích hợp để thu hồi dầu và hợp chất giàu piceatannol từ hạt chanh leo tím (*Passiflora edulis Sims.*), một loại phụ phẩm của công nghiệp chế biến chanh leo. Khảo sát điều kiện thu hồi dầu hạt chanh leo bằng phương pháp chiết xuất hồi lưu thông qua các yếu tố: Dung môi hữu cơ (n-hexan, ethylacetate, acetone), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1/3; 1/4; 1/5; 1/6; 1/7 g/ml), nhiệt độ chiết (40; 45; 50; 55°C), thời gian chiết (45; 60; 75; 90 phút) và số lần chiết (1, 2, 3 lần). Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chiết xuất piceatannol bằng ethanol hỗ trợ sóng siêu âm được đánh giá gồm: Nồng độ ethanol (40; 50; 60; 70%), nhiệt độ chiết (50; 60; 70; 80°C), thời gian chiết (10; 20; 30; 40; 50 phút) và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1/10; 1/15; 1/20 và 1/25 g/ml). Hiệu suất trích ly dầu đạt cao nhất (81,61%) ở điều kiện trích ly bằng n-hexan với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 (g/ml), 50°C trong 60 phút và số lần trích ly là 2 lần. Điều kiện chiết suất piceatannol tối ưu đạt cao nhất là 77,1% ở điều kiện chiết xuất tối ưu có hỗ trợ của sóng siêu âm tần số 40 kHz, 600 W gồm: Dung môi ethanol 60%, nhiệt độ chiết 60°C, thời gian 30 phút và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 g/ml. Ở điều kiện này, dịch chiết thu được có hàm lượng piceatannol đạt 137,1 µg/ml. Kết quả của nghiên cứu là tiền đề cho nghiên cứu thu nhận dầu và piceatannol ứng dụng trong thực phẩm và dược phẩm, khai thác tối đa tiềm năng của nguồn phụ phẩm từ quả chanh leo, hướng đến phát triển kinh tế tuần hoàn bền vững và bảo vệ môi trường.

Từ khóa: Chiết xuất, hạt chanh leo tím, piceatannol, sóng siêu âm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, sản xuất chanh leo dần mở rộng ở Việt Nam và đã phát triển thành ngành hàng nông sản thế mạnh và có tiềm năng thị trường lớn, đặc biệt đối với các sản phẩm chế biến. Theo Cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật (Bộ Nông nghiệp và Môi trường), giai đoạn năm 2025 - 2030, cả nước ổn định diện tích chanh leo từ 12.000 - 15.000 ha, chủ yếu tập trung ở các tỉnh miền núi phía Bắc và Tây Nguyên, sản lượng quả tươi đạt 300 - 400 nghìn tấn/năm [1]. So với các nước sản xuất chanh leo lớn trên thế giới, Việt Nam có thể sản xuất chanh leo quanh năm. Quả chanh leo đang được nhiều doanh nghiệp chế biến xác định là mặt hàng chính với các sản phẩm như

nước ép cô đặc, đông lạnh, sấy dẻo... nhằm phục vụ thị trường trong nước và xuất khẩu. Bên cạnh việc phát triển của ngành chế biến trái cây thì việc giải quyết phụ phẩm đi kèm vẫn luôn là vấn đề cần quan tâm. Công nghiệp chế biến chanh leo thải ra một lượng lớn phế phụ phẩm bao gồm vỏ và hạt, trong đó hạt chiếm 8 - 12% khối lượng quả [2]. Cho tới nay, khối lượng hạt này vẫn chưa có hướng tận dụng ngoài việc đốt bỏ. Trong khi đó, một số nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra rằng hạt chanh leo chứa nhiều hoạt chất sinh học quý có lợi cho sức khỏe con người.

Thành phần hóa học chính của hạt chanh leo bao gồm: Hàm lượng cacbohydrat dao động từ 49 - 71 g/100 g hạt khô, protein dao động từ 12 - 18

g/100 g hạt và dầu từ 12 - 33 g/100 g hạt [3]. Thành phần dầu trong hạt chanh leo chủ yếu là axit linoleic (chiếm 70% chất béo). Axit linoleic giữ vai trò quan trọng trong việc giảm hàm lượng cholesterol máu làm giảm nguy cơ các bệnh tim mạch. Hạt chanh leo được chứng minh là có chứa hàm lượng lớn polyphenol (chiếm 88% tổng số polyphenol của vỏ, hạt và thịt quả). Trong số các polyphenol có trong hạt thì piceatannol có hàm lượng cao nhất [4]. Về hoạt tính sinh học, các nghiên cứu *in vitro* cho thấy piceatannol có khả năng kháng oxy hóa, chống lão hóa, bảo vệ tim mạch, chống ung thư, kháng viêm và giảm béo phì [5]. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* gần đây chỉ ra tác dụng hạn chế quá trình tạo mỡ, tích lũy mỡ, hạ đường huyết máu của piceatannol [6].

Hiện nay, trên thế giới đã có một số nghiên cứu tách chiết và thu nhận dầu từ hạt chanh leo bằng các phương pháp khác nhau nhưng chủ yếu là sử dụng dung môi hữu cơ. Hiệu suất chiết dầu từ hạt chanh leo đạt 93,4% khi sử dụng dung môi n-hexan với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/11 ở nhiệt độ 60°C và thời gian trích ly 8 giờ (lần 1: 5 giờ và lần 2: 3 giờ) [7]. Trong khi đó, dầu hạt chanh leo được trích ly bằng dung môi ethyl acetate ở nhiệt độ 30°C, trong thời gian 30 phút, số lần chiết 2 lần với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10 và 1/5 (w/v) cho hiệu suất là 78,12%. Tuy nhiên, lượng piceatannol bị tổn thất nhiều sau quá trình tách dầu (31,06%) [8]. Kết quả nghiên cứu thu nhận dầu từ hạt kiwi, chanh leo và ổi cho thấy hàm lượng omega 6 linoleic axit của dầu hạt chanh leo đạt tới 73,4%, ngoài ra còn có chứa các sterols và tocopherols [9]. Nghiên cứu thành phần dầu chiết từ một số loại hạt quả thu hoạch từ Brazil như: Cam, chanh, quýt, dưa hấu, đu đủ, chanh leo và ổi bằng thiết bị soxhlet cho thấy dầu từ các loại hạt này chứa lượng axit béo không no khá lớn (67,6 - 88,1%), chủ yếu là oleic và linoleic axit. Hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng quét gốc tự do DPPH của dầu các loại hạt như sau: Dưa hấu > chanh leo > cam > ổi > chanh > quýt > đu đủ [10].

Để chiết xuất và thu nhận piceatannol từ hạt chanh leo, một số nghiên cứu trên thế giới đã áp dụng những kỹ thuật chiết xuất như sử dụng dung

môi hữu cơ hoặc dung môi kết hợp với xử lý áp suất cao (PLE), sóng siêu âm (UAE) hay vi sóng (MAE),.... De Santana và cs (2017) đã tối ưu được quy trình tách chiết piceatannol từ hạt chanh leo sử dụng ethanol làm dung môi chiết ở nồng độ 70%, nhiệt độ chiết 80°C trong 30 phút thu được dịch chiết có hàm lượng piceatannol đạt 36,8 mg/g hạt khô [11]. Dos và cs (2021) đã thu được lượng piceatannol từ hạt quả chanh leo cao gấp 2,4 lần (55,5 mg/g) khi sử dụng ethanol làm dung môi kết hợp xử lý áp suất cao so với phương pháp chiết dung môi thông thường [4]. Gislaine C. Silva và cs (2021) đã xử lý hạt chanh leo bằng ethanol kết hợp vi sóng trong 30 phút thu được lượng piceatannol là $27,17 \pm 0,9$ µg/mg, trong khi chiết xuất bằng phương pháp Soxhlet trong 120 phút lượng piceatannol thu được chỉ là $13,03 \pm 0,4$ µg/mg [12]. Chiết xuất piceatannol bằng dung môi hữu cơ kết hợp xử lý áp suất cao và vi sóng tuy có ưu điểm là hiệu suất thu hồi cao, thời gian chiết ngắn, tiết kiệm năng lượng, nhưng cần thiết bị chuyên dụng với chi phí đầu tư cao và khó áp dụng ở quy mô lớn.

Phương pháp sử dụng dung môi hữu cơ kết hợp với sóng siêu âm ngày càng được sử dụng nhiều nhờ hiệu quả chiết xuất cao hơn phương pháp chiết thông thường, đồng thời giá thành thấp và dễ vận hành áp dụng ở quy mô lớn. Krambeck và cs (2020) đã nghiên cứu so sánh khả năng chiết xuất piceatannol và resveratrol trong hạt quả chanh leo trồng ở Bồ Đào Nha của phương pháp chiết xuất Soxhlet với chiết xuất có hỗ trợ của sóng siêu âm sử dụng dung môi hữu cơ ethanol và acetone. Kết quả cho thấy, phương pháp chiết xuất bằng Soxhlet trong 8 giờ không thu nhận được piceatannol và resveratrol khi dùng cả hai loại dung môi. Trong khi đó, phương pháp xử lý sóng siêu âm (35 kHz, 80 W, 60 phút) kết hợp ethanol cho hàm lượng piceatannol và resveratrol trong dịch chiết đạt 10 µg/ml và 13,5 µg/ml, còn acetone là 10 µg/ml và 34,5 µg/ml [13]. Lai Thi Ngoc Ha và cs (2016) đã nghiên cứu và đưa ra được điều kiện tốt nhất cho sự tách chiết piceatannol từ hạt chanh leo sử dụng sóng siêu âm gồm: Nồng độ ethanol 80% (v/v), nhiệt độ 70°C, thời gian tách chiết 30 phút. Với điều kiện này, hiệu suất thu hồi piceatannol là $4,5 \pm 0,17$ mg/g

chất khô hạt. Bột đông khô của dịch chiết piceatannol thể hiện khả năng kháng hai dòng tế bào ung thư [14]. Quá trình siêu âm dựa trên năng lượng sóng siêu âm làm thúc đẩy khả năng thẩm thấu dung môi vào mẫu chiết làm tăng bề mặt tiếp xúc cũng như tạo ra các lỗ rỗng giúp giải phóng thành phần vật chất ra khỏi mẫu chiết. Sự gia tăng cường độ chiết xuất bằng siêu âm được cho là do sự lan truyền của sóng siêu âm qua dung môi và hiện tượng tạo lỗ rỗng. Các cơ chế kiểm soát thường là các hiệu ứng cơ học, tạo lỗ rỗng và nhiệt, có thể dẫn đến sự phá vỡ thành tế bào, giảm kích thước hạt và tăng cường truyền khối qua màng tế bào và từ đó làm tăng hiệu suất chiết xuất. Sự kích thích từ sóng siêu âm có thể gây ra các hiện tượng như vi xoáy và hỗn loạn cực độ, tạo điều kiện tốt cho quá trình trao đổi chất và tác động lên các phân tử. Chiết xuất sử dụng sóng siêu âm làm tăng hiệu suất chiết, rút ngắn thời gian so với phương pháp truyền thống (trong vài phút thay vì vài giờ), giúp giảm lượng dung môi cần sử dụng, đem lại hiệu quả vượt trội [5].

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định những điều kiện thích hợp để thu hồi dầu và hợp chất giàu piceatannol bằng phương pháp chiết xuất sử dụng dung môi hữu cơ kết hợp với sóng siêu âm từ hạt chanh leo tím trồng tại Tây Nguyên.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hạt của quả chanh leo tím (*Passiflora edulis* Sims.) được thu nhận sau quá trình tách dịch tại Nhà máy chế biến chanh leo của Tập đoàn Nafoods (Nghệ An). Hạt sau chế biến đã được làm sạch dịch quả, được đóng túi và đem về sấy khô đến độ ẩm 10 -12%) nghiền mịn đến kích thước qua rây 0,5 mm, đựng trong túi PE kín, bảo quản ở -4°C sử dụng cho nghiên cứu.

Dung dịch natri cacbonat 7,5%, n-hexan, ethyl acetate, acetone, maltodextrin (DE-20), ethanol, ethyl acetat, Na₂CO₃, thuốc thử Folin-Denis,... Các hóa chất dùng để chạy HPLC: Piceatannol chuẩn của Merck (Đức), galic axit chuẩn của Merck, acetonitrile, acetic axit, ethylenediamine tetraacetic axit (EDTA), methanol của Merck (Đức), các hóa chất sử dụng cho phân tích.

Máy sấy đối lưu memmert (Đức), thiết bị xác định ẩm nhanh (PMB 53 - Adam (Anh), cân phân tích, máy voltex, cân phân tích, máy quang phổ UV - VIS, bộ chiết hồi lưu, hệ thống cô quay chân không (Rotovapor R300), bể siêu âm, máy ly tâm Mikro 220R (Hettich zentrifugen, Đức), hệ thống sắc ký HPLC Shimadzu (Nhật Bản) và một số dụng cụ khác như: Bình cầu 500 ml, 1.000 ml; bình tam giác thể tích; ống nghiệm, cốc đong; ống đong...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất dầu từ hạt chanh leo

Hạt chanh leo sau khi đã được sơ chế, sấy khô đến độ ẩm 10 -12% được nghiền mịn đến kích thước qua rây 0,5 mm, rồi cho vào thiết bị chiết với dung môi hữu cơ (50 g nguyên liệu/mẫu). Sau khi chiết, tiến hành loại bỏ bã thu dịch trong, thu hồi dung môi bằng máy cô quay chân không (40°C, 100 mmHg) đến khối lượng không đổi để thu dầu thô. Xác định hiệu suất chiết dầu từ hạt chanh leo. Kết quả của thí nghiệm trước được sử dụng cho thí nghiệm sau. Các điều kiện khảo sát theo thứ tự gồm:

- Dung môi chiết: n-hexan, ethyl acetate, acetone. Cố định thông số: Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/4 (w/v), nhiệt độ 50°C, thời gian 30 phút, số lần chiết: 1 lần

- Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v): 1/3, 1/4, 1/5, 1/6, 1/7. Cố định thông số: Dung môi lựa chọn ở thí nghiệm trên, nhiệt độ 50°C, thời gian 30 phút, số lần chiết: 1 lần

- Nhiệt độ chiết: 40°C, 45°C, 50°C và 55°C. Cố định thông số: Dung môi và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lựa chọn ở trên, thời gian 30 phút, số lần chiết: 1 lần

- Thời gian chiết: 45, 60, 75 và 90 phút. Cố định thông số: Dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nhiệt độ được lựa chọn ở thí nghiệm trên, số lần chiết: 1 lần

- Số lần chiết: 1, 2 và 3 lần

Hiệu suất chiết dầu được tính theo công thức

$$(H): H (\%) = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

Trong đó: m_1 là khối lượng dầu có trong nguyên liệu ban đầu (g); m_2 là khối lượng dầu thô chiết được (g)

2.2.2. Chiết xuất piceatannol từ hạt chanh leo sau tách dầu

Trong nghiên cứu này, chiết xuất piceatannol bằng dung môi ethanol kết hợp với sóng siêu âm (40 kHz, 600 W). Cân chính xác khoảng 0,5 g nguyên liệu bột hạt chanh leo sau tách dầu, nghiền mịn cho vào ống falcon. Bổ sung dung môi ethanol theo tỉ lệ thích hợp, lắc đều các ống falcon và đặt các ống này trong hệ thống chiết siêu âm. Loại bỏ bã, thu dịch trong đem phân tích hàm lượng piceatannol. Các điều kiện nghiên cứu khảo sát được thực hiện theo thứ tự lần lượt bao gồm:

❖ Nồng độ dung môi: 40%, 50%, 60% và 70%.
Cố định thông số: Nhiệt độ chiết là 50°C, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 và thời gian chiết là 30 phút.

❖ Nhiệt độ chiết: 50°C, 60°C, 70°C và 80°C.
Cố định thông số: Nồng độ dung môi lựa chọn ở trên, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 và thời gian chiết là 30 phút.

❖ Thời gian chiết: 10 phút, 20 phút, 30 phút, 40 phút và 50 phút. Cố định thông số: Nồng độ dung môi, nhiệt độ lựa chọn ở trên, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20.

❖ Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: 1/10, 1/15, 1/20, và 1/25 g/ml. Cố định thông số: Nồng độ dung môi, nhiệt độ, thời gian lựa chọn ở trên.

Phân tích hàm lượng piceatannol trong dịch chiết thu được ở mỗi thí nghiệm, quy đổi theo cùng thể tích ở mẫu dịch có tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 để xác định tỷ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp cho tách chiết piceatannol từ hạt quả chanh leo. Công thức quy đổi như sau:

$$\text{Hàm lượng piceatannol quy đổi } (\mu\text{g/ml}) = C \times \frac{V_2}{V_1} \times 100$$

Trong đó: C là hàm lượng piceatannol trong dịch chiết thu được ($\mu\text{g/ml}$); V_1 là thể tích dịch cho vào mẫu chiết; V_2 là thể tích dịch cho vào mẫu có tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/20.

Hiệu suất thu hồi piceatannol của quá trình chiết xuất được tính theo công thức sau:

$$H (\%) = \frac{C_2 \times V}{C_1 \times m \times 1000} \times 100$$

Trong đó: m là khối lượng bột hạt chanh leo sau khi làm sạch thô đưa vào chiết xuất (g); C_1 là hàm lượng piceatannol trong bột hạt sau khi làm sạch thô đưa vào chiết suất (mg/g); C_2 là hàm lượng piceatannol trong dịch chiết thu được ($\mu\text{g/ml}$); V là thể tích dịch chiết thu được sau quá trình (ml); 1.000 là hệ số quy đổi từ mg sang μg .

2.2.3. Phương pháp xác định hàm lượng dầu: theo TCVN 6555:2017[15]

2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng piceatannol

Sử dụng cột sắc ký silicagel pha đảo C18 (250 x 4,6 mm, 5 μm). Hệ thống sắc kí lỏng HPLC-Shimadzu của Nhật Bản với các bộ phận đã nêu ở phần 2.2.1 để xác định hàm lượng piceatannol. Phần mềm xử lý peak là phần mềm LC-Solution. Thành phần các pha động: Pha A: 2 $\mu\text{g/ml}$ EDTA, 2% axit acetic, 6% acetonitrile; pha B: 2 $\mu\text{g/ml}$ EDTA, 2% axit acetic, 70% acetonitrile. Chế độ chạy: Nhiệt độ cột: 35°C; Detector được đặt ở 320 nm; tốc độ dòng: 1mL/ phút; Thể tích mẫu: 20 μL . Gradient pha động như sau: 0 - 4 phút, 0% B; 4 - 8 phút, 0 - 35% B; 8 - 18 phút, 35 - 80% B; 18 - 20 phút, 80 - 100% B; 20 - 25 phút, 100% B; 25 - 30 phút, 100 - 0% B; 30 - 32 phút, 0% B. Hàm lượng piceatannol trong mẫu được tính dựa theo đường chuẩn.

2.2.5. Phương pháp xử lý thống kê

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được phân tích sử dụng hệ thống phân tích thống kê SAS version 6.10. Phân tích giả thiết thống kê theo ANOVA. Các giá trị trung bình được so sánh bằng LSD ở mức $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu chiết xuất dầu từ hạt chanh leo tím

3.1.1. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu suất chiết dầu

Hiện nay trên thế giới đã có một số nghiên cứu tách chiết và thu nhận dầu từ hạt chanh leo bằng các phương pháp khác nhau. Nhìn chung, các nghiên cứu này đều cho thấy tiềm năng thu nhận dầu với chất lượng dinh dưỡng cao, giàu các axit béo không no, các loại vitamin và các nguyên tố vi lượng. Nghiên cứu lựa chọn 3 loại dung môi thường sử dụng trong chiết xuất dầu để khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu suất chiết

dầu từ hạt chanh leo bằng thiết bị chiết hồi lưu. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu suất chiết dầu từ hạt chanh leo

Loại dung môi	Hiệu suất tách chiết dầu (%)
n-hexan	$57,22 \pm 0,85^a$
Ethyl acetate	$50,79 \pm 1,02^b$
Aceton	$46,28 \pm 0,73^c$

Ghi chú: ^{a, b, c} Ký hiệu chữ cái khác nhau trong cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở cùng điều kiện thí nghiệm tách chiết dầu trong hạt chanh leo, n-hexan cho hiệu suất tách chiết cao nhất (57,22%). Sự khác biệt về hiệu suất tách chiết dầu được giải thích một phần do độ phân cực của các dung môi sử dụng. Sự khác biệt về hiệu suất tách chiết dầu được giải thích một phần do độ phân cực của các dung môi sử dụng, tương tự như nghiên cứu về ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu suất tách chiết dầu trong nguyên liệu thực vật đã được báo cáo với hạt bí ngô [16]. Hằng số điện môi phản ánh độ phân cực của dung môi, hằng số điện môi càng lớn thì dung môi càng phân cực. Trong nghiên cứu này, hằng số điện môi của aceton (21,0) cao hơn ethyl acetate (6,02) và n-hexan (1,9) có nghĩa là n-hexan có độ phân cực thấp, hòa tan các thành phần chất béo có trong hạt chanh leo tốt hơn so với ethyl acetate và aceton. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Cung Thị Tố Quỳnh và cs (2018) [7]. Tuy nhiên, để tách chiết dầu của hạt chanh leo với quy mô lớn trong thực tế có thể cân nhắc và nghiên cứu thêm về việc sử dụng ethylacetate làm dung môi chiết dựa trên độ an toàn của dung môi và tốc độ bay hơi của dung môi thấp hơn n-hexan giúp giảm chi phí sản xuất.

3.1.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất chiết dầu

Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất chiết dầu được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi giảm từ 1/3 xuống 1/5, thì hiệu suất chiết dầu tăng từ $50,41 \pm 0,83\%$ đến $62,32 \pm 1,14\%$. Tiếp tục

giảm tỷ lệ này, hiệu suất chiết dầu tăng lên không có ý nghĩa. Điều này cho thấy, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 đã đạt cân bằng về hàm lượng dầu trong nguyên liệu và dung môi. Việc tăng thêm lượng dung môi sẽ tăng chi phí sản xuất và có thể làm giảm chất lượng sản phẩm. Bởi vậy, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 được lựa chọn trong các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất chiết dầu

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi	Hiệu suất tách chiết dầu (%)
1/3	$50,41 \pm 0,83^c$
1/4	$57,13 \pm 1,17^b$
1/5	$62,32 \pm 1,14^a$
1/6	$63,14 \pm 1,21^a$

Ghi chú: ^{a, b, c} Ký hiệu chữ cái khác nhau trong cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.1.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết dầu

Nhiệt độ cùng với dung môi đóng vai trò quan trọng trong quá trình tách chiết dầu từ hạt chanh leo, nhiệt độ không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất chiết mà còn ảnh hưởng đến chi phí năng lượng và chất lượng của dầu thu nhận được.

Bảng 3. Ảnh hưởng nhiệt độ đến hiệu suất tách chiết dầu

Nhiệt độ (°C)	Hiệu suất chiết dầu (%)
40	$52,72 \pm 2,12^b$
45	$55,68 \pm 2,44^b$
50	$62,21 \pm 2,53^a$
55	$64,29 \pm 1,92^a$

Ghi chú: ^{a, b, c} Ký hiệu chữ cái khác nhau trong cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất chiết tăng lên khi tăng nhiệt độ chiết từ 40°C lên 55°C và đạt cao nhất là 64,29% ở 55°C. Tuy nhiên, hiệu suất chiết ở 50°C và ở 55°C không có sự khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$). Chính vì vậy, nhiệt độ thích hợp để lựa chọn cho nghiên cứu này là 50°C. Nghiên cứu không tăng nhiệt độ cao hơn 55°C vì nếu nhiệt độ chiết gần với nhiệt độ sôi của dung môi sẽ gây tổn thất dung môi khá lớn do bay hơi. Kết quả nghiên cứu hoàn toàn tương đồng với nghiên cứu của Cung Tố Quỳnh và cs (2018) [7].

3.1.4. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết dầu

Thời gian chiết có ảnh hưởng đến hiệu suất chiết của dầu. Trong nghiên cứu này, thời gian chiết được khảo sát từ 45 - 90 phút. Kết quả được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất chiết dầu

Thời gian chiết (phút)	Hiệu suất chiết (%)
45	$62,41 \pm 1,07^b$
60	$67,23 \pm 1,21^a$
75	$69,28 \pm 1,35^a$
90	$69,93 \pm 1,27^a$

Ghi chú: ^{a, b, c} Ký hiệu chữ cái khác nhau trong cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu suất chiết dầu tăng khi thời gian chiết tăng từ 45 phút lên 60 phút. Tuy nhiên, hiệu suất không khác nhau có ý nghĩa khi thời gian chiết kéo dài hơn 60 phút. Để tránh tăng chi phí cho hoạt động của thiết bị và hạn chế biến đổi chất lượng dầu thì 60 phút được lựa chọn để chiết xuất dầu từ hạt chanh leo.

3.1.5. Ảnh hưởng của số lần chiết đến hiệu suất chiết dầu

Quy trình thu hồi dầu được lặp lại 3 lần. Hiệu suất thu hồi được đánh giá sau những lần lặp lại. Kết quả thể hiện trong bảng 5.

Số lần chiết ảnh hưởng có ý nghĩa đến hiệu suất chiết dầu. Hiệu suất chiết tăng khi tăng số lần chiết. Tuy nhiên, từ lần chiết thứ ba, dầu khó tách ra khỏi bã và có nhiều cặn lơ lửng làm giảm độ trong của dầu. Do đó, lựa chọn số lần chiết dầu từ

hạt chanh leo là hai lần. Đây cũng là lựa chọn tối ưu trong nghiên cứu của Lại Thị Ngọc Hà (2024) [8] và Cung Tố Quỳnh và cs (2018) ([7]).

Bảng 5. Ảnh hưởng của số lần chiết đến hiệu suất chiết chất dầu

Số lần chiết (lần)	Hiệu suất chiết dầu (%)
1	$67,23 \pm 1,04^a$
2	$81,61 \pm 1,13^b$
3	$83,80 \pm 1,22^b$

Ghi chú: ^{a, b, c} Ký hiệu chữ cái khác nhau trong cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)



Hình 1. Hình ảnh dầu thô của hạt chanh leo

Từ kết quả nghiên cứu trên, thông số công nghệ chiết xuất dầu từ hạt chanh leo được lựa chọn gồm: Dung môi chiết là n-hexan, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5, nhiệt độ chiết 50°C, thời gian chiết 60 phút và số lần chiết là hai lần. Với điều kiện chiết này hiệu suất chiết đạt 81,61%.

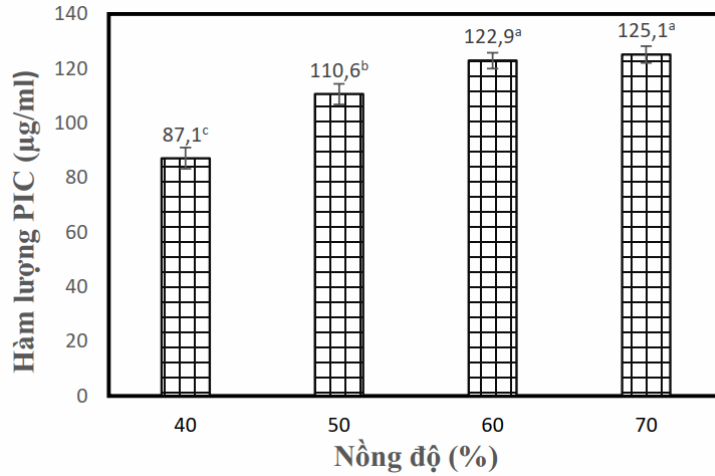
3.2. Nghiên cứu chiết xuất piceatannol từ hạt chanh leo tím

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến khả năng chiết piceatannol

Lựa chọn nồng độ dung môi phù hợp là một trong những yếu tố quan trọng nhất trong quá trình tách chiết polyphenol nói chung và chiết xuất là piceatannol nói riêng. Nồng độ dung môi ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất chiết piceatannol. Một số nghiên cứu trong và ngoài nước đã chỉ ra rằng ethanol là dung môi phù hợp và an toàn để sử dụng cho chiết xuất polyphenol và piceatannol [16]. Việc sử dụng ethanol với nồng độ pha loãng thường được ưu tiên hơn trong chiết xuất so với ethanol tinh khiết nồng độ cao. Khi sử dụng dung môi ethanol pha loãng với nước giúp tiết kiệm

lượng dung môi cần dùng, giảm chi phí sản xuất. Trong nghiên cứu này, ethanol được sử dụng ở các nồng độ khác nhau: 40%, 50%, 60%, 70% để khảo sát khả năng chiết xuất piceatannol từ hạt chanh leo. Các thí nghiệm được tiến hành trong hệ thống

chiết có hỗ trợ của sóng siêu âm với tần số 40 kHz, 600 W. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến lượng piceatannol thu được bằng phương pháp chiết xuất có sự hỗ trợ của sóng siêu âm được thể hiện ở hình 2.



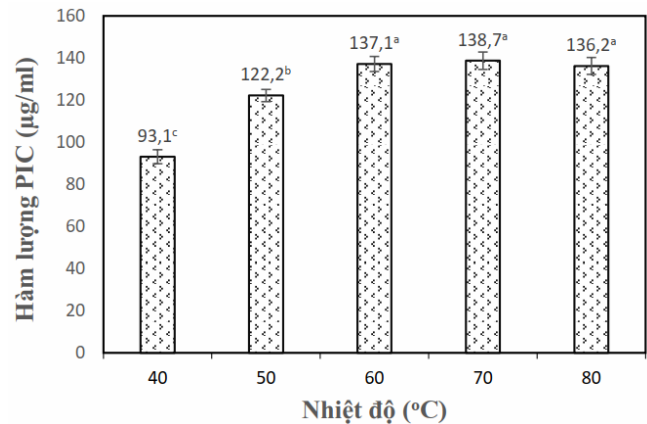
Hình 2. Ảnh hưởng nồng độ ethanol đến khả năng chiết piceatannol

Hình 2 cho thấy, nồng độ dung môi ảnh hưởng đến khả năng chiết xuất piceatannol. Hàm lượng piceatannol thu được khác nhau ở các công thức sử dụng ethanol với nồng độ khác nhau. Hàm lượng piceatannol có xu hướng tăng lên (từ $87,1 \pm 3,9$ µg/ml lên $125,1 \pm 3,1$ µg/ml) khi sử dụng ethanol ở nồng độ tăng từ 40 - 70%. Kết quả này phù hợp với kết quả chiết xuất piceatannol bằng ethanol 70% đã được công bố của Matsui và cs (2016) [17] và chiết xuất polyphenol từ lá ôliu của Konstantinos và cs (2014) [18]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, hàm lượng piceatannol thu được ở nồng độ ethanol 60% và 70% không có sự khác biệt có ý nghĩa nên nồng độ dung môi ethanol 60% được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng chiết piceatannol

Nhiệt độ ảnh hưởng không chỉ đến hiệu suất chiết mà còn ảnh hưởng đến chi phí năng lượng và chất lượng sản phẩm. Nhiệt độ chiết có tác động tích cực, tăng tốc và cải thiện quá trình bằng cách gia tăng hệ số khuếch tán và giảm độ nhớt. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ quá cao, có thể gây những tác động không mong muốn như phá hủy glycoside, thúc đẩy quá trình oxy hóa và epimer hóa các catechin, đồng thời dẫn đến tiêu tốn dung môi và gây khó khăn trong quá trình tinh chế.

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến lượng piceatannol thu được bằng phương pháp chiết xuất có sự hỗ trợ của sóng siêu âm sử dụng dung môi ethanol 60% với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 trong thời gian 30 phút được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng chiết piceatannol

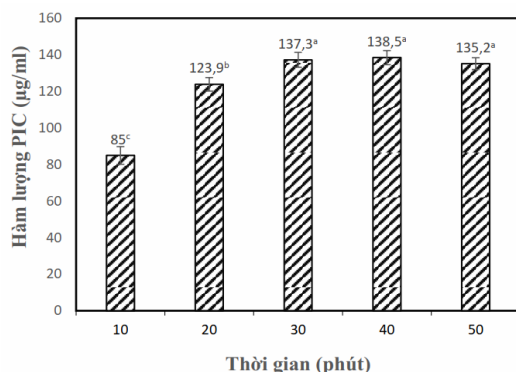
Kết quả hình 3 cho thấy, lượng piceatannol thu được thấp nhất ($93,1 \pm 3,3$ µg/ml) ở công thức nhiệt độ 40°C và đạt cao nhất ($138,7 \pm 4,1$ µg/ml) ở công thức sử dụng nhiệt độ chiết là 70°C. Ở công thức nhiệt độ là 70°C và 80°C thì hàm lượng piceatannol chiết được so với điều kiện chiết ở 60°C khác nhau không có ý nghĩa. Dịch chiết sau đó tiếp tục qua các bước lọc loại bỏ bã, làm sạch dịch nên ở quy mô sản xuất nếu chiết xuất ở nhiệt độ cao sẽ tăng thêm chi phí năng lượng, tổn thất

dung môi do bay hơi ở các công đoạn sau. Do đó, nhiệt độ chiết phù hợp được lựa chọn là 60°C cho các thí nghiệm tiếp theo. Ngưỡng nhiệt độ này thấp hơn giá trị lựa chọn trong nghiên cứu của Lai Thi Ngoc Ha và cs (2016) [14]. Sự khác biệt này có thể lý giải do sự khác nhau về nguyên liệu đưa vào chiết xuất. Nguyên liệu đầu vào của quá trình chiết xuất tại nghiên cứu của Lai Thi Ngoc Ha và cs (2016) [14] là bột hạt chanh leo, trong khi nguyên liệu chiết của nghiên cứu là bột hạt chanh leo đã được tách dầu.

3.2.3. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng chiết piceatannol

Thời gian chiết xuất cũng đóng vai trò quan trọng, ảnh hưởng đến hiệu suất và chất lượng của sản phẩm. Hiệu quả chiết xuất thường tăng theo thời gian chiết. Khi thời gian chiết ngắn, hàm lượng piceatannol thu được sẽ thấp. Tuy nhiên, nếu để thời gian chiết quá dài có thể khiến cho polyphenol nói chung và piceatannol nói riêng có khả năng bị oxy hóa, tạo ra các sản phẩm không mong muốn, làm giảm chất lượng của dung dịch chiết xuất và ảnh hưởng đến hàm lượng piceatannol chứa trong dịch. Ngoài ra, thời gian chiết xuất quá dài cũng tốn năng lượng và làm giảm hiệu suất sử dụng của thiết bị.

Trong thí nghiệm này, lựa chọn các khoảng thời gian từ 10 - 50 phút để đánh giá hiệu quả chiết xuất. Quá trình chiết xuất được thực hiện với dung môi ethanol ở nồng độ 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 và nhiệt độ chiết là 60°C. Kết quả được thể hiện trong hình 4.

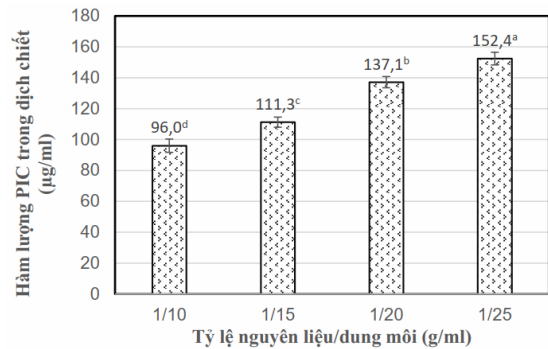


Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất đến khả năng chiết piceatannol

Hình 4 cho thấy, thời gian chiết tăng từ 10 phút lên 30 phút thì hàm lượng piceatannol tăng từ

85,0 ± 4,8 µg/ml lên 137,3 ± 4,1 µg/ml. Tuy nhiên, khi thời gian chiết tiếp tục tăng lên đến 40 phút và 50 phút thì lượng piceatannol tăng lên không có ý nghĩa. Điều này có thể lý giải là khi thời gian chiết xuất ngắn, dung môi không có đủ thời gian để xâm nhập vào tế bào và hoà tan piceatannol dẫn đến lượng piceatannol thu được ít hơn. Tuy nhiên, nếu thời gian chiết xuất kéo dài, polyphenol có thể bị oxy hóa và lượng hoạt chất chiết được không tăng thêm, đặc biệt là dưới tác động của sóng siêu âm [9]. Kết quả của nghiên cứu tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lai Thi Ngoc Ha và cs (2016) [13]. Từ kết quả này, thời gian chiết được lựa chọn là 30 phút cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến khả năng chiết piceatannol



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến khả năng chiết piceatannol

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi có thể ảnh hưởng tới hiệu suất chiết xuất do tác động đến khả năng khuếch tán của chất cần chiết vào dung môi, tiến hành chiết xuất mẫu bằng dung môi ethanol 60% lựa chọn ở thí nghiệm trên, với các tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10, 1/15, 1/20, và 1/25. Nhiệt độ chiết 60°C và thời gian 30 phút. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tới lượng piceatannol thu được thể hiện trong hình 5.

Hình 5 cho thấy, lượng piceatannol thu được tăng dần khi tăng dần lượng dung môi từ 1/10 lên 1/25 (g/ml) và đạt cao nhất là 152,4 ± 4,1 (µg/ml) ở tỷ lệ 1/25 g/ml. Khi lượng dung môi tăng lên, hiệu suất chiết xuất chiết tăng lên tuy nhiên sẽ thu được một lượng lớn dịch chiết. Điều này sẽ làm tăng thời gian thu hồi và chi phí năng lượng. Hơn nữa, trong sản xuất thông thường, các nguyên liệu khô thường được chiết xuất với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10 với số lần chiết từ 1 - 2 lần.

Do đó, sử dụng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 là phù hợp để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Sau khi khảo sát, lựa chọn được điều kiện chiết xuất phù hợp cho mẫu hạt chanh leo có hỗ trợ của sóng siêu âm (tần số 40 kHz, công suất 600 W) ở các thông số: Nồng độ ethanol 60%, nhiệt độ chiết suất 60°C, thời gian chiết suất 30 phút và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20. Ở điều kiện chiết xuất này, mẫu bột hạt chanh leo sau khi làm sạch thô được đưa vào chiết xuất có hàm lượng piceatannol là 2,91 mg/g, dịch chiết thu được sau quá trình chiết xuất có hàm lượng piceatannol là $137,1 \pm 3,6$ (µg/ml). Hiệu suất chiết piceatannol đạt 77,1%.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã lựa chọn được thông số công nghệ chiết dầu của hạt chanh leo gồm: Dung môi chiết là n-hexan, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5, nhiệt độ 50°C trong 60 phút và chiết hai lần. Hiệu suất chiết dầu đạt 81,61%. Hạt sau tách dầu tiếp tục được chiết xuất piceatannol với thông số công nghệ như sau: Dung môi chiết ethanol 60% kết hợp xử lý sóng siêu âm tần số 40kHz, công suất 600 W, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1 g/20 ml, nhiệt độ chiết 60°C, trong 30 phút. Hiệu suất chiết đạt 77,1%. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở cho nghiên cứu chuyên sâu hơn như: Tinh sạch dầu và piceatannol để ứng dụng trong thực phẩm và dược phẩm, khai thác tối đa tiềm năng của nguồn phụ phẩm dồi dào này. Từ đó, nâng cao giá trị kinh tế của quả chanh leo, hướng đến phát triển kinh tế tuần hoàn bền vững và bảo vệ môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Phúc. <https://baoangiang.com.vn/phat-trien-ben-vung-cay-chanh-leo-a288234.html>
2. Lê Anh Tuấn và Nguyễn Văn Lợi (2023). Ứng dụng chế phẩm enzyme pectinase để khai thác và thu hồi dịch quả chanh leo của tỉnh Cao Bằng. *HNUE Journal of Science*, 68 (1), 53 - 62.
3. Devi, S. R., Sidik, J., Zakaria, M. (2018). Nutritive values of passion fruit (*Passiflora Species*) seeds and its role in human health. *J. Agric. Food Dev*, 4, 23 - 30.
4. Dos Santos L. C., Mendiola J. A., Sanchez-Camargo A. D. P., Alvarez-Rivera G., Vigano J.,

Cifuentes A., Ibanez E., and Martinez J. (2021). Selective extraction of piceatannol from *Passiflora edulis* by-products: Application of HSPs strategy and inhibition of neurodegenerative enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*. 22, 6248.

5. Kershaw J. and Kim K. H. (2017). The Therapeutic Potential of Piceatannol, a Natural Stilbene, in Metabolic Diseases: A Review. *Journal of Medicinal Food*, 20 (5), 427 - 438.

6. Minakawa M, Miura Y, Yagasaki K. (2012). Piceatannol, a resveratrol derivative, promotes glucose uptake through glucose transporter 4 translocation to plasma membrane in L6 myocytes and suppresses blood glucose levels in type 2 diabetic model db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun* 422: 469 - 475.

7. Cung Tố Quỳnh, Nghiêm Xuân Sơn, Bùi Quang Thuật (2018). Nghiên cứu sơ bộ thu nhận và đánh giá chất lượng dầu từ hạt chanh leo. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 14(5), 60 - 65.

8. Lại Thị Ngọc Hà (2024). Nghiên cứu tách chiết dầu và piceatannol từ hạt chanh leo. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 22(1): 82 - 93.

9. Piombo G., Barouh N., Barea B., Boulanger R., Brat P., Pina M., Villeneuve P. (2006). Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*). *OCL journal - Fondamental*, 13 (2-3), 195 - 199.

10. Malacrida C.R. (2010). Characterization of oils extracted from fruit seeds: fatty acid composition, tocopherols and carotenoids. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 69 (1), 144.

11. De Santana F. C., de Oliveria Torres L. R., Shinagawa F. B., de Oliveria e Silva A.M., Yoshime L. T., de Melo L. L. P., Mäcelini P. S., Macini-Filho J. (2017). Optimization of the antioxidant polyphenolic compounds extraction of yellow passion fruit seeds (*Passiflora edulis* Sims) by response surface methodology. *J. Food Sci. Technol*. 54, 3552 - 3561.

12. Gislaine C. Silva, Rodney A. F. Rodrigues, Carla B. G. Bottoli (2021). Passion fruit seed extract enriched in piceatannol obtained by microwave-assisted extraction. *Sustainable*

Chemistry and Pharmacy, 22, 100472. DOI:10.1016/j.scp.2021. 100472

13. Krambeck K., Oliveira A., Santos D., Pintado M. M., Silva J. B., Lobo J. M. S. and Amarai M. H. (2020). Identification and Quantification of stilbenes (Piceatannol and resveratrol) in *Passiflora edulis* by-products. *Pharmaceuticals*, 13, 73.

14. Lai Thi Ngoc Ha, Bui Van Ngoc, Hoang Hai Ha, Hoang Thi Yen (2016). Ultrasound-assisted extraction and anticancer activity of piceatannol from *Passiflora edulis* seed. *Vietnam J. Agri. Sci.* 14(7): 1016 - 1025.

15. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6555: 2017. Ngũ cốc, sản phẩm từ ngũ cốc và thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng chất béo thô và hàm lượng chất béo tổng số bằng phương pháp Randall.

16. Chatepa L. E. C. and Masamba K. G. (2019). The influence of solvents polarity on physicochemical properties and oil yield extracted from pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 11(3): 40 - 47.

17. Matsui Y., Yokohama J. P., Kamei M., Sugiyama K. (2016). Piceatannol-containing composition and method of producing piceatannol-containing composition. Patent No. US 9,393,191 B2.

18. Konstantinos Stamatopoulos, Archontoula Chatzilazarou, Evangelos Katsoyannos (2014). Optimization of multistage extraction of olive leaves for recovery of phenolic compounds at moderated temperature and short extraction times. *Foods*, 3, 66 - 81.

STUDY ON EXTRACTION OF OIL AND PICEATANNOL-RICH COMPOUND FROM PURPLE PASSION FRUIT SEED (*Passiflora edulis* Sims.)

Bui Kim Thuy¹, Pham Thi Mai¹,

Le Thi Thanh Thuy¹, Pham Minh Tuan¹, Nguyen Duy Lam²

¹ Vietnam Institute of Agricultural Engineering & Postharvest Technology

² Nguyen Tat Thanh University

Abstract

The objective of the study was to determine suitable conditions for the recovery of oil and piceatannol-rich compounds from purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) seeds, a by-product of the passion fruit processing industry. The conditions for recovering passion fruit seed oil by reflux extraction method such as: organic solvent (n-hexane, ethylacetate, acetone), raw material/solvent ratio (1/3; 1/4; 1/5; 1/6; 1/7), extraction temperature (40; 45; 50; 55°C), extraction time (45; 60; 75; 90 minutes) and number of extractions (1; 2; 3 times) were investigated. The factors affecting the ability to extract piceatannol by ultrasound-assisted ethanol including: ethanol concentration (40; 50; 60; 70%), extraction temperature (50; 60; 70; 80°C), extraction time (10; 20; 30; 40; 50 minutes) and raw material/solvent ratio (1/10; 1/15; 1/20; 1/25 g/ml) were evaluated. The highest oil extraction efficiency (81.61%) was achieved under n-hexane extraction conditions with a material/solvent ratio of 1/5 (g/ml), temperature of 50°C for 60 minutes and double extractions. The highest extraction yield of 77.1% under the optimal extraction conditions assisted by 40 kHz, 600 W ultrasound waves with 60% ethanol solvent, 60°C extraction temperature, 30 mins and material/solvent ratio of 1/20 g/ml was achieved. Under these conditions, the resulting extract had a piceatannol content of 137.1 µg/ml. The results of this study are the premise for research on oil and piceatannol extraction for application in food and pharmaceuticals, maximizing the potential of by-products from passion fruit, aiming at developing a sustainable circular economy and protecting the environment.

Keywords: *Extraction, purple passion fruit seed, piceatannol, ultrasound.*

Ngày nhận bài: 24/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 10/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 30/7/2025

Ngày duyệt đăng: 12/8/2025

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ CÔNG NGHỆ ĐẾN KHẢ NĂNG PHÂN HỦY HỮU CƠ TRONG LÊN MEN BÃ DONG RIỀNG LÀM PHÂN BÓN HỮU CƠ BẰNG CHẾ PHẨM VI SINH PBDR5-VIAEP

Nguyễn Thị Hồng Hà^{1*}, Nguyễn Thị Hương Trà¹, Lê Thị Trang¹,
Nguyễn Ngọc Huyền¹, Nguyễn Tuấn¹, Vũ Thu Diễm¹, Nguyễn Đình Mạnh²

¹ Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

² Công ty TNHH một thành viên ứng dụng công nghệ mới và du lịch

*Email: ngthongha77@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định một số yếu tố công nghệ trong quá trình lên men bã dong riềng bằng chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP nhằm sản xuất phân bón hữu cơ. Kết quả nghiên cứu đã xác định được các điều kiện công nghệ lên men bao gồm: Tỷ lệ bổ sung chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP là 0,2% và tần suất đảo trộn trong quá trình lên men là 10 ngày/lần. Sau 42 ngày lên men, sản phẩm phân bón hữu cơ thu được có các chỉ tiêu chất lượng đáp ứng quy định theo QCVN 01-189:2019/BNNT, cụ thể: Độ ẩm 27,2%; pH 7,3; hàm lượng hữu cơ 29,8%; nitơ tổng số (N) 1,9%; lân (P_2O_5) 1,0%; kali (K_2O) 1,3%. Đồng thời, các chỉ tiêu vi sinh vật (*Salmonella*, *E. coli*) và kim loại nặng (asen, chì, thủy ngân, cadimi) đều đạt yêu cầu về giới hạn tối đa cho phép đối với phân bón hữu cơ theo quy định hiện hành.

Từ khóa: Bã dong riềng, chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP, phân bón hữu cơ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây dong riềng (*Canna elidus* Ker.) được xếp là cây trồng chủ lực các tỉnh miền núi trung du Bắc bộ và Bắc Trung bộ. Theo Cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật - Bộ Nông nghiệp và Môi trường, trong vài năm gần đây, diện tích trồng dong riềng ở Việt Nam ước đạt khoảng 30.000 ha, sản lượng củ tươi hàng năm khoảng 300.000 tấn và có xu hướng ngày càng tăng. Tinh bột dong riềng và miến dong là hai loại sản phẩm được chế biến từ củ dong riềng. Hiện nay, các sản phẩm này đang có sức tiêu thụ lớn trên thị trường trong nước và xuất khẩu, tạo công ăn việc làm, gia tăng giá trị sản xuất nông nghiệp, góp phần tích cực trong việc chuyển dịch cơ cấu kinh tế - xã hội địa phương.

Tuy nhiên, bên cạnh những mặt tích cực thì hoạt động sản xuất chế biến tinh bột dong riềng tại các làng nghề hay hợp tác xã còn bất cập. Lượng chất thải rắn là bã dong chiếm khoảng 80% khối lượng củ tươi nếu không xử lý sẽ ảnh hưởng đến chất lượng môi trường sống khu vực quanh làng nghề, tác động trực tiếp tới sức khỏe người dân, ảnh hưởng không nhỏ tới sự phát triển bền

vững của làng nghề và sự phát triển bền vững của nền kinh tế đất nước.

Ở nước ta đã có một số công trình nghiên cứu ứng dụng chế phẩm vi sinh trong xử lý phụ phẩm nông nghiệp làm phân bón hữu cơ như: Nghiên cứu đánh giá khả năng phân giải cellulose của các chủng vi sinh vật phục vụ sản xuất chế phẩm phân hủy rom rạ làm phân bón cho thấy, nhóm nấm mốc cho khả năng phân giải cellulose tốt nhất, thể hiện qua khả năng phân giải cellulose D/d từ 20 - 24, tiếp đến là vi khuẩn 5 - 18 và thấp nhất là nhóm xạ khuẩn 2 - 14 [1]. Nhiều nghiên cứu cho thấy, *Trichoderma* có khả năng phân hủy tốt phụ phẩm nông nghiệp sau thu hoạch vì chúng có hệ enzyme phân giải lignin, hemicellulose và đặc biệt là cellulose. 123 chủng *Trichoderma* đều có hoạt tính phân giải cellulose và xylan với đường kính vòng phân giải từ 0,2 - 2,8 cm và 0,2 - 3,5 cm, theo thứ tự [2]. Nghiên cứu khác cho thấy, trong số 100 loài nấm được thử nghiệm, có 42,6% chủng thuộc chi *Trichoderma* có khả năng sinh tổng hợp hai loại enzyme là xylanase và cellulase. Trong đó, chủng *Trichoderma viride* Fd18 cho hoạt tính xylanase và cellulase cao nhất là 1,30 U/mg và 1,23 U/mg,

theo thứ tự [3]. *Trichoderma* được dùng để xử lý bùn thải nhà máy bia và nhà máy chế biến thủy sản làm phân bón. Sau 45 ngày xử lý, phân bón hữu cơ đạt chất lượng cao với 2,8% N; 6,6% P₂O₅, 2,1% K₂O và 40,9% C. Hàm lượng kim loại nặng, *Salmonella* và *Escherichia coli* đều đạt dưới ngưỡng cho phép. Mật độ *Trichoderma* sau ủ đạt $7,8 \times 10^7$ CFU/g. Phân bón đã được thử nghiệm trên rau cải, đậu bắp, dưa leo và bí đao [4]. *Trichoderma* còn được ứng dụng trong xử lý rơm rạ làm phân bón. Sau 4 tuần xử lý, phân bón hữu cơ có tỷ lệ C/N 20,4 và tăng hàm lượng NPK (1% N, 0,2% P₂O₅ và 3,3% K₂O). Sử dụng phân bón hữu cơ từ rơm rạ trên cây lúa giúp giảm 30% phân hóa học, tăng năng suất lúa 3,9 - 4,4% ở vụ đông xuân và 1,4 - 3,9% ở vụ hè thu [5]. Ngoài khả năng phân giải các chất hữu cơ cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng, *Trichoderma* còn tiết ra các kháng sinh gây độc cho nấm bệnh hoặc cạnh tranh điều kiện sống với nấm gây bệnh cho cây trồng [6].

Trong các nghiên cứu trước của đề tài, bã dong riềng được xác định là phụ phẩm giàu chất hữu cơ nhưng khó phân hủy tự nhiên do chứa hàm lượng hemicellulose (21,83 - 25,36%) và cellulose (7,35 - 10,81%) cao, cùng với độ ẩm lớn (83,5 - 86,4%) và cấu trúc sợi bền vững. Những đặc điểm này gây cản trở quá trình phân hủy sinh học, đặc biệt trong sản xuất phân bón hữu cơ. Do đó, việc ứng dụng vi sinh vật có khả năng sinh enzyme phân giải xơ như cellulase và xylanase được xem là giải pháp hiệu quả nhằm tăng tốc độ phân hủy, rút ngắn thời gian xử lý và nâng cao hiệu quả sử dụng bã dong riềng. Trong số đó, các chủng *Trichoderma* đã được chứng minh có hiệu quả cao nhờ khả năng tiết enzyme mạnh và thích nghi tốt với nền nguyên liệu giàu chất xơ.

Chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP là sản phẩm của đề tài cấp Bộ Nông nghiệp và Môi trường “Nghiên cứu công nghệ sản xuất các chế phẩm vi sinh để xử lý bã dong riềng”. Chế phẩm này chứa chủng *Trichoderma viride* D5 với mật độ > 10⁸ CFU/g. Chủng *T. viride* D5 có khả năng sinh tổng hợp các enzyme ngoại bào cellulase và xylanase, được thể hiện qua đường kính vòng phân giải tương ứng trên môi trường đặc cellulose (3,02 cm) và xylan (3,43 cm). Ngoài ra, chủng còn có khả

năng đối kháng mạnh với một số nấm gây bệnh trên rau quả như *Colletotrichum musae* (ức chế 91,3%), *Lasiodiplodia theobromae* (70,2%) và *Thielaviopsis paradoxa* (77,2%) trong điều kiện *in vitro* [7]. Tuy nhiên, để chế phẩm PBDR5-VIAEP phát huy hiệu quả và thúc đẩy quá trình phân hủy chất hữu cơ trên nền bã dong riềng, cần thiết phải nghiên cứu xác định các điều kiện công nghệ tối ưu. Việc này nhằm đảm bảo quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ đạt hiệu quả cao cả về chất lượng sản phẩm và thời gian xử lý.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Bã dong riềng do Hợp tác xã Tài Hoan, địa chỉ: thôn Chè Cọ, xã Côn Minh, huyện Na Rì, tỉnh Bắc Kạn cung cấp.

- Chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP là sản phẩm của đề tài cấp Bộ Nông nghiệp và Môi trường “Nghiên cứu công nghệ sản xuất các chế phẩm vi sinh để xử lý bã dong riềng”. Chế phẩm chứa chủng *T. viride* D5 với mật độ >10⁸ CFU/g và độ ẩm khoảng 12%. Sản phẩm được đóng gói trong túi nhôm PE, khối lượng 1 kg/túi, bảo quản ở nơi khô ráo, thoáng mát, nhiệt độ phòng và tránh ánh nắng trực tiếp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống

Bã dong riềng được đánh tơi tạo độ tơi xốp và độ đồng đều về kích thước của nguyên liệu. Độ ẩm của bã dong riềng trước lên men đạt 55 - 60%. Cố định các yếu tố: tỷ lệ rỉ đường 0,5%, phân urê 1%, phân chuồng lên men hoại mục 15%, phân supe lân 0,6% và phân kali đỏ 0,8%. Thí nghiệm được bố trí với các tỷ lệ chế phẩm PBDR5-VIAEP bổ sung vào bã dong riềng như sau 0,05; 0,1; 0,2 và 0,5%. Nguyên liệu sau phối trộn được phân phối vào các túi nylon, mỗi túi có trọng lượng 2kg, buộc kín đầu túi và lên men ở nhiệt độ phòng. Thực hiện đảo trộn sau 10, 20 và 30 ngày lên men. Sau 40 ngày lên men, tiến hành lấy mẫu phân tích. Lựa chọn tỷ lệ giống qua chỉ tiêu hàm lượng hữu cơ (VCK); và tỷ lệ phân hủy hữu cơ. Thí nghiệm lặp lại 03 lần.

2.2.2. Ảnh hưởng của chế độ đảo trộn

Bã dong riềng được đánh tơi tạo ra độ đồng đều về thành phần cơ giới và kích cỡ của nguyên liệu. Độ ẩm của bã dong riềng trước lên men đạt

55 - 60%. Cố định các yếu tố: tỷ lệ rỉ đường 0,5%, phân urê 1%, phân chuồng lên men hoại mục 15%, phân supe lân 0,6%, phân kali đỏ 0,8% và tỷ lệ giống (là kết quả của thí nghiệm 2.2.1). Nguyên liệu sau phối trộn được phân phối vào các túi nylon, mỗi túi có trọng lượng 2 kg, buộc kín đầu túi và lên men ở nhiệt độ phòng. Sau 10 ngày lên men tiến hành đảo trộn với các tần suất đảo trộn như sau: 3 ngày/lần, 5 ngày/lần và 10 ngày/lần.

Sau 40 ngày lên men, tiến hành lấy mẫu phân tích. Lựa chọn tần suất đảo trộn qua chỉ tiêu hàm lượng hữu cơ (VCK) và tỷ lệ phân hủy hữu cơ. Thí nghiệm lặp lại 03 lần.

2.2.3. Ảnh hưởng của thời gian lên men

Bã dong riêng được đánh toi nhằm tạo độ đồng đều về kích thước của nguyên liệu, đồng thời hạn chế hiện tượng vón cục trong quá trình phối trộn và ủ. Độ ẩm của bã dong riêng trước lên men được điều chỉnh ở mức 55 - 60%. Cố định các yếu tố: Tỷ lệ rỉ đường 0,5%, phân urê 1%, phân chuồng ủ hoại mục 15%, phân supe lân 0,6%, phân kali đỏ 0,8%, tỷ lệ giống (là kết quả của thí nghiệm 2.2.1) và chế độ đảo trộn là kết quả của thí nghiệm 2.2.2). Các tỷ lệ trên được tính theo khối lượng bã dong riêng trước khi ủ, sau khi đã được điều chỉnh về độ ẩm 55 - 60%. Nguyên liệu sau phối trộn được phân phối vào các túi nylon, mỗi túi có trọng lượng 2 kg, buộc kín đầu túi và lên men ở nhiệt độ phòng. Tiến hành lấy mẫu tại các thời điểm 35, 40 và 45 ngày lên men. Lựa chọn thời gian lên men qua chỉ tiêu chất lượng phân bón như: Hàm lượng các-bon, nitơ, tỷ lệ C/N, pH, độ ẩm. Thí nghiệm lặp lại 03 lần.

2.2.4. Thử nghiệm sản xuất phân hữu cơ từ bã dong riêng quy mô 300 kg/mẻ và đánh giá chất lượng sản phẩm

- Bã dong riêng được ép bằng máy ép với công suất 6,5 tấn/giờ, tốc độ trục 650 vòng/phút đến độ ẩm đạt 55 - 60%. Sau đó, nguyên liệu được đánh toi tạo ra độ đồng đều về thành phần cơ giới và kích cỡ của nguyên liệu.

- Tiến hành lên men theo các công thức thí nghiệm sau: Phân chuồng ủ hoại mục 15%; rỉ đường 0,5%; phân urê 1%; phân supe lân 0,6%; phân kali đỏ 0,8% và tỷ lệ giống 0,2%.

- Các bước tiến hành: Quy mô đồng lên men 300 kg nguyên liệu bã dong riêng; các phụ liệu

được cân với tỷ lệ như trên; chế phẩm PBRD5-VIAEP được hòa với 2 lít nước sạch và rỉ đường; trộn đều phân urê, phân supe lân và phân kali đỏ; rải bã dong riêng đã xử lý theo lớp, rộng mỗi chiều khoảng 0,8 - 1 m, dày 0,2 m; sau đó rải đều lên một lớp phân chuồng, hỗn hợp phân urê, phân supe lân và phân kali đỏ; tiếp theo, tưới đều phân dung dịch chế phẩm và nước rỉ đường lên trên. Cứ tiếp tục từng lớp như vậy cho đến khi hoàn thành sẽ được đồng phân lên men cao khoảng 0,5 - 0,6 m. Phủ bạt đồng ủ để che mưa nắng và giữ nhiệt cho đồng lên men. Sau 10 ngày tiến hành đảo trộn. Tiếp tục đảo trộn sau 20 và 30 ngày lên men. Tiến hành theo dõi biến đổi nhiệt độ, pH đồng lên men theo thời gian và đánh giá chất lượng phân lên men qua các chỉ tiêu như hàm lượng các-bon, nitơ, tỷ lệ C/N, pH, độ ẩm.

2.2.5. Xác định độ chín của phân bón

Đánh giá độ chín (hoại) của phân bón theo TCVN 7185:2002 [8] thông qua việc đo nhiệt độ đồng lên men. Sử dụng nhiệt kế có mức đo nhiệt độ từ 0 - 100°C, cắm sâu 50 - 60 cm vào trong đơn vị bao gói có khối lượng không nhỏ hơn 10 kg. Sau 15 phút, đọc nhiệt độ. Đo, ghi chép và theo dõi sự thay đổi nhiệt độ trong 3 ngày liên tiếp, mỗi ngày đo 1 lần (nên đo vào 9 giờ đến 10 giờ). Phân hữu cơ bảo đảm độ chín khi nhiệt độ của đơn vị bao gói phân bón không thay đổi so với nhiệt độ môi trường trong suốt thời gian theo dõi.

2.2.6. Một số phương pháp lý hóa

- Xác định hàm lượng các-bon hữu cơ và chất hữu cơ theo TCVN 9294:2012 [9].

- Xác định hàm lượng nitơ tổng số theo TCVN 8557: 2010 [10].

- Tỷ lệ C/N: Là tỉ lệ giữa các-bon tổng số và nitơ tổng số.

- Tỷ lệ phân hủy hữu cơ

Tỷ lệ phân hủy hữu cơ (%) = $\frac{(OM_{tr} - OM_s)}{OM_{tr}} \times 100$

Trong đó: OM_{tr} là hàm lượng hữu cơ trước xử lý (VCK); OM_s là hàm lượng hữu cơ sau xử lý (VCK).

- Xác định độ ẩm theo TCVN 9297:2012 [11].

- Xác định hàm lượng K₂O tổng số TCVN 8562:2010 [12].

- Xác định hàm lượng P₂O₅ tổng số theo TCVN 8563:2010 [13].

- Xác định hàm lượng asen theo TCVN 11403:2016 [14].

- Xác định hàm lượng chì theo TCVN 9290:2018 [15].

- Xác định hàm lượng cadimi theo TCVN 9291:2018 [16].

- Xác định hàm lượng thủy ngân theo TCVN 10676:2015 [17].

2.2.7. Chỉ tiêu vi sinh

- Xác định *Escherichia coli* theo TCVN 6846:2007 [18].

- Xác định *Salmonella* theo TCVN 10780-1:2017 [19].

2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và SPSS 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung chế phẩm PBDR5-VIAEP

Tỷ lệ giống đóng một vai trò quan trọng trong quá trình ủ nguyên liệu làm phân bón hữu cơ. Tỷ lệ giống thích hợp không những tạo cho quá trình ủ đạt hiệu quả cao mà còn tiết kiệm được chi phí sản xuất. Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung chế phẩm PBDR5-VIAEP chứa chủng *T. viride* D5 đến hiệu quả phân hủy hữu cơ trong bã dong riềng được khảo sát ở các tỷ lệ giống là 0,05%, 0,1%, 0,2% và 0,5%. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Khả năng phân hủy hữu cơ của *T. viride* D5 trong xử lý bã dong riềng làm phân bón hữu cơ ở các tỷ lệ giống khác nhau

Tỷ lệ giống (%)	Hàm lượng hữu cơ (% VCK)	Tỷ lệ phân hủy hữu cơ (%)
Trước xử lý	74,8 ± 0,37 ^d	-
0,05	38,4 ± 0,36 ^c	48,7
0,1	33,7 ± 0,41 ^b	54,9
0,2	29,1 ± 0,55 ^a	61,1
0,5	28,3 ± 0,34 ^a	62,2

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c... trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở độ tin cậy 95%

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tỷ lệ giống bổ sung có ảnh hưởng đến khả năng phân hủy hữu cơ của chủng *T. viride* D5 trong môi trường bã dong riềng.

Ở tỷ lệ giống 0,05%, tỷ lệ phân hủy hữu cơ chỉ đạt 48,7%. Khi tăng tỷ lệ giống từ 0,1 - 0,5%, khả năng phân hủy hữu cơ tăng đến 62,2%. Ở tỷ lệ giống 0,2% và 0,5% cho hàm lượng hữu cơ sau ủ không có sự khác biệt nhiều. Xét về hiệu quả kinh tế, đã chọn tỷ lệ giống bổ sung vào bã dong riềng là 0,2%.

Qua tổng hợp các nghiên cứu trong nước về xử lý phụ phẩm nông nghiệp như bã dong riềng, rơm rạ, phân chuồng... làm phân bón hữu cơ bằng chế phẩm vi sinh đơn chủng hay đa chủng, tỷ lệ giống thích hợp dao động từ 0,02 - 0,2%. Tỷ lệ giống khác nhau do tính chất của nguyên liệu cũng như đặc tính của vi sinh vật, mật độ vi sinh vật có trong chế phẩm. Do vậy, với mỗi loại nguyên liệu và mỗi loại chế phẩm vi sinh vật sử dụng, cần xác định các yếu tố công nghệ tối ưu để quá trình sản xuất phân bón tạo sản phẩm có chất lượng đồng thời mang lại hiệu quả kinh tế.

3.2. Ảnh hưởng của chế độ đảo trộn

Quá trình lên men phân chia làm 3 giai đoạn: 1/Pha thích nghi: Là giai đoạn để vi sinh vật thích nghi với môi trường sống mới. 2/Pha tăng trưởng: quá trình phân hủy sinh học làm tăng nhiệt độ đến ngưỡng nhiệt độ mesophilic (khu hệ vi sinh vật chịu nhiệt). 3/Pha trưởng thành: Giai đoạn ổn định chất thải, nhiệt độ tăng lên cao nhất tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh hiệu quả nhất. Giai đoạn đầu là giai đoạn vi sinh vật thích nghi và phát triển. Do vậy, trong khoảng 7 - 10 ngày không cần đảo trộn. Sau 10 ngày tiến hành đảo trộn. Ngoài thời gian đảo trộn, cách đảo trộn cũng ảnh hưởng đến khả năng sinh enzyme của hệ sợi nấm. Đảo nhanh, mạnh nhanh làm tản nhiệt khối cơ chất, dễ tạo độ xốp, nhưng dễ làm gãy, vỡ hệ sợi nấm. Đảo chậm khó thoát nhiệt nhanh, tạo độ xốp chậm, nhưng bảo toàn tốt hệ sợi. Do vậy, khối ủ được đảo thủ công bằng xẻng, thao tác nhẹ nhàng theo từng lớp từ dưới lên trên trong thời gian khoảng 5 - 7 phút. Mỗi lần đảo được thực hiện theo chiều xoắn ốc để đảm bảo độ toi xốp đồng đều, hạn chế làm đứt gãy hệ sợi nấm phát triển trong khối ủ. Khi quá trình phân giải trong đồng ủ bắt đầu thì sự đảo trộn được xem như một quá trình cung cấp không khí cho vi sinh vật phát triển. Sự đảo trộn không những cung cấp không khí cho quá trình lên men mà còn giúp loại bỏ bớt hơi nước, các loại khí độc

và làm giảm nhiệt độ đồng ủ lên men. Nhiệt độ quá cao sẽ hạn chế sinh trưởng, phát triển của vi sinh vật. Nếu trong quá trình lên men mà không đảo trộn, vi sinh vật kỵ khí phát triển sẽ lấn át vi sinh vật hiếu khí và quá trình phân hủy chất hữu cơ sẽ hình thành mùi hôi trong đồng ủ lên men chủ yếu từ khí H_2S (mùi trứng thối) và NH_3 (mùi khai). Đảo trộn còn giúp tạo độ xốp cho cơ chất, giúp cho các sợi mixen nấm mốc có thể phát triển và mọc sâu vào trong khối ủ (đối với nấm mốc sinh enzyme, lượng sinh khối sợi mixen càng cao, lượng enzyme sinh tổng hợp từ nấm mốc thu được sẽ càng cao).

Sau 10 ngày lên men tiến hành đảo trộn lần 1. Thí nghiệm được tiến hành với các tần suất đảo trộn sau 10 ngày lên men như sau: 3 ngày/lần, 5 ngày/lần và 10 ngày/lần. Ảnh hưởng của tần suất đảo trộn đến khả năng phân hủy hữu cơ trong sản xuất phân bón hữu cơ từ bã dong riềng được trình bày ở bảng 2.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tần suất đảo trộn 10 ngày/lần cho hàm lượng chất hữu cơ sau lên men thấp nhất là 29,5%, tương đương với tỷ lệ phân

hủy hữu cơ cao nhất đạt 60,6%. Ở các thí nghiệm với tần suất đảo trộn 3 ngày/lần và 5 ngày/lần đều cho tỷ lệ phân hủy hữu cơ thấp hơn, tương ứng là 51,6% và 54,1%. Điều này có thể là do khi đảo trộn quá nhiều đặc biệt ở giai đoạn đầu của quá trình lên men sẽ làm đứt gãy hệ sợi mốc do vậy ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật.

Bảng 2. Khả năng phân hủy hữu cơ của *T. viride* D5 trong xử lý bã dong riềng làm phân bón hữu cơ ở các tần suất đảo trộn khác nhau

Tần suất đảo trộn	Hàm lượng hữu cơ (% VCK)	Tỷ lệ phân hủy hữu cơ (%)
Trước xử lý	$74,8 \pm 0,37^d$	-
3 ngày/lần	$36,2 \pm 0,32^c$	51,6
5 ngày/lần	$34,3 \pm 0,46^b$	54,1
10 ngày/lần	$29,5 \pm 0,51^a$	60,6

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c... trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở độ tin cậy 95%.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng phân bón hữu cơ từ bã dong riềng

Bảng 3. Một số chỉ tiêu chất lượng của phân bón hữu cơ từ bã dong riềng theo thời gian lên men

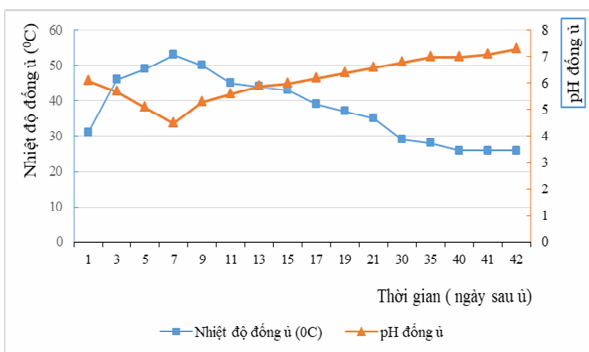
Chỉ tiêu	Đơn vị	Thời gian lên men (ngày)			Quy định về phân bón hữu cơ theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT [20]
		35	40	45	
Độ ẩm	%	$31,6 \pm 0,3$	$27,5 \pm 0,4$	$25,1 \pm 0,3$	≤ 30
pH		$7,0 \pm 0,12$	$6,8 \pm 0,18$	$7,2 \pm 0,15$	≥ 5
Hữu cơ	%	$31,5 \pm 0,42$	$29,2 \pm 0,46$	$28,5 \pm 0,5$	≥ 20
C	%	14,3	13,3	13	
N	%	$1,6 \pm 0,02$	$1,7 \pm 0,03$	$1,8 \pm 0,01$	Không quy định
C/N		8,9	7,8	7,2	≤ 12
P_2O_5	%	$0,8 \pm 0,02$	$1,0 \pm 0,01$	$1,2 \pm 0,01$	Không quy định
K_2O	%	$1,4 \pm 0,03$	$1,3 \pm 0,05$	$1,5 \pm 0,04$	Không quy định

Thời gian lên men phân quyết định chất lượng, hiệu quả phân tạo ra. Dựa vào phương pháp lên men để xác định được thời gian hoàn thành quá trình lên men. Nếu sử dụng phân bón khi chưa đạt thời gian cần thiết sẽ gặp phải một số vấn đề như: Chất hữu cơ chưa được phân giải thành các chất dinh dưỡng, mùi hôi thối, nhiều bào tử, vi khuẩn, ấu trùng của các loại có hại cho cây trồng vẫn còn hoạt động... Ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng phân bón hữu cơ từ bã dong riềng được trình bày ở bảng 3.

Kết quả nghiên cứu bảng 3 cho thấy, sau 35 ngày ủ, các chỉ tiêu chất lượng của phân bón như giá trị pH 7,0, hàm lượng hữu cơ 31,5%, tỷ lệ C/N 8,9 đạt theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT [20]. Tuy nhiên, độ ẩm 31,6% cao hơn so với mức quy định. Ở thời điểm ủ 40 và 45 ngày, các chỉ tiêu chất lượng phân đều đạt so với quy định, cụ thể độ ẩm từ 25,1 - 27,5%, giá trị pH từ 6,8 - 7,2, hàm lượng hữu cơ 28,5 - 29,2%, nitơ 1,7 - 1,8%, tỷ lệ C/N 7,2 - 7,8, P_2O_5 1,0 - 1,2, K_2O 1,3 - 1,5%. Như vậy, ở quy mô thí nghiệm, thời gian lên men cho xử lý bã dong riềng làm phân bón hữu cơ là sau 40 ngày.

3.4. Thử nghiệm sản xuất phân hữu cơ từ bã dong riềng quy mô 300 kg nguyên liệu/mẻ

Dựa trên kết quả về thành phần nguyên liệu bổ sung vào môi trường lên men bã dong riềng và một số yếu tố công nghệ thích hợp trong quá trình lên men bã dong riềng làm phân bón hữu cơ, đã xây dựng được công thức nguyên liệu như sau: Bã dong riềng độ ẩm 55 – 60%, phân chuồng ủ hoại mục 15%, rỉ đường 0,5%, phân urê 1%, phân supe lân dạng bột 0,6%, phân kali đỏ 0,8%, chế phẩm PBDR5-VIAEP 0,2%. Quy mô đồng ủ 300 kg nguyên liệu bã dong riềng. Thường xuyên kiểm tra đồng ủ. Nếu có hiện tượng khô, thiếu độ ẩm thì phun thêm nước lên bề mặt đồng ủ và đập bạt kín lại. Quá trình lên men xảy ra ngay sau đánh đồng. Quá trình phân huỷ hữu cơ xảy ra nhanh cùng với các quá trình tích tụ nhiệt. Có sự khác nhau đáng kể giữa quá trình lên men của các loại nguyên liệu khác nhau. Nhưng nhìn chung, nhiệt độ lên men sẽ được tích tụ tăng dần sau 24 giờ ủ. Nhiệt độ lên men cũng khác nhau, tùy theo từng chất liệu và kích cỡ của đồng ủ. Nhiệt độ có thể lên đến 50 - 65°C trong vòng 3 ngày và sẽ được giữ nguyên trong giai đoạn đầu. Nhiệt độ cao cho thấy các vi sinh vật đang hoạt động và hô hấp rất mạnh, nếu nhiệt độ ủ men giảm là dấu hiệu đang thiếu oxy do đó cần phải đảo ngay. Với nhiệt độ trên 70°C, độ hoạt động của vi sinh giảm 10 - 15% so với tại mức nhiệt 60°C, ở nhiệt độ 75 - 82°C không còn thấy hoạt động nào của vi sinh vật. Việc theo dõi biến động nhiệt độ đồng ủ là rất cần thiết, góp phần quan trọng cho hoàn thiện chất lượng phân bón. Do vậy, nghiên cứu đã tiến hành theo dõi biến động nhiệt độ, pH đồng ủ theo thời gian ủ và đánh giá chất lượng phân ủ.



Hình 1. Kết quả theo dõi biến động nhiệt độ, pH trong đồng ủ

Giá trị pH theo thời gian lên men: pH ban đầu của nguyên liệu khoảng 6, đây là giá trị nằm trong khoảng pH thích hợp (5,5 - 8,5) cho các vi sinh vật trong quá trình lên men phân. Giai đoạn đầu của quá trình lên men pH bằng 6,1. Sau 3 ngày lên men, pH giảm xuống 5,7 và tiếp tục giảm mạnh nhất đạt giá trị 4,5 sau 7 ngày lên men. Điều này có thể do trong thời gian này, vi sinh vật, nấm tiêu thụ các hợp chất hữu cơ và thải ra các axit hữu cơ. Trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, các axit này tích tụ và làm giảm độ pH, kìm hãm sự phát triển của vi sinh vật. Tại thời điểm này, các loại nấm chịu axit đóng vai trò cực kỳ quan trọng trong đồng lên men. Tuy nhiên, trong quá trình lên men khi nhiệt độ tăng cao, các vi sinh vật nhanh chóng phân huỷ các axit hữu cơ, do đó pH dần tăng lên đến mức trung tính và đạt giá trị 7,0 - 7,3 sau 40 - 42 ngày lên men. Việc tăng và giảm pH không chỉ do sự phân huỷ các hợp chất hữu cơ mà còn liên quan trực tiếp đến hàm lượng amon trong phân lên men và có lẽ do sự phân huỷ protein thành amon.

Nhiệt độ theo thời gian lên men: Kết quả ở bảng 3 cho thấy, sau 1 ngày lên men, nhiệt độ của đồng lên men bắt đầu thay đổi và tăng lên 31°C, cao hơn so với nhiệt độ của môi trường xung quanh 20 - 25°C. Sau 03 ngày lên men, nhiệt độ tăng vọt lên đến 46°C và tiếp tục tăng, dao động từ 50 - 53°C trong 5 - 9 ngày lên men. Từ ngày thứ 11 trở đi nhiệt độ trong đồng lên men bắt đầu có xu hướng giảm dần. Trong giai đoạn đầu, nhiệt độ khối lên men tăng cao điều đó chứng tỏ các loại vi sinh vật phân giải chất hữu cơ phát triển nhanh cùng với quá trình phân huỷ các hợp chất hữu cơ trong đồng lên men đang xảy ra mạnh. Nhiệt độ tăng đột biến này được giải thích là do quá trình hoạt động của nấm *T. viride* D5 cùng với hệ vi sinh vật có sẵn trong khối lên men. Sự tăng nhiệt độ này còn rất có lợi vì hầu hết các loại vi sinh vật gây bệnh đều bị tiêu diệt ở 50 - 60°C trong 1 - 2 giờ.

Ở giai đoạn cuối, trong 3 ngày liên tiếp, 40, 41 và 42 ngày lên men, nhiệt độ trong khối lên men giữ ở mức ổn định 26°C, gần với nhiệt độ môi trường chứng tỏ phân hữu cơ đảm bảo độ hoại mục (độ chín). Độ hoại mục là một chỉ tiêu quan trọng cho ta biết thời gian phế thải hoại mục hoàn toàn,

phế thải hữu cơ đã hoại mục có thể sử dụng như một nguồn phân bón hữu cơ. Trong nghiên cứu, chỉ

tiêu hoại mục được xác định bằng phương pháp đo nhiệt độ sản phẩm theo TCVN 7185: 2002 [8].



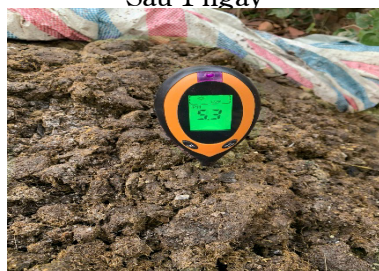
Sau 1 ngày



Sau 3 ngày



Sau 7 ngày



Sau 9 ngày



Sau 19 ngày



Sau 42 ngày

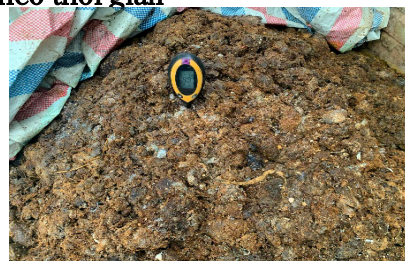
Hình 2. Kiểm tra và theo dõi pH đồng lên men theo thời gian



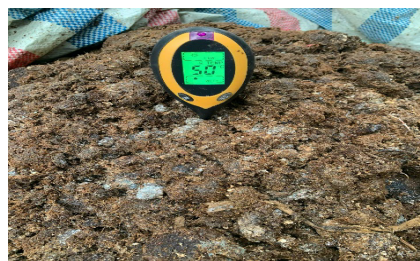
Sau 1 ngày



Sau 3 ngày



Sau 5 ngày



Sau 9 ngày



Sau 11 ngày



Sau 15 ngày



Sau 17 ngày



Sau 19 ngày



Sau 21 ngày

Hình 3. Kiểm tra và theo dõi nhiệt độ đồng ủ theo thời gian

3.5. Đánh giá chất lượng phân bón

Tiến hành lấy mẫu và phân tích chỉ tiêu chất lượng phân bón hữu cơ sau 40 và 42 ngày lên men. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4 cho thấy, sau 40 ngày lên men, các chỉ tiêu chất lượng của phân bón như giá trị pH 7,1, hàm lượng hữu cơ 30,6% và tỷ lệ C/N là 7,7% đạt theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT [20]. Tuy

nhiên, độ ẩm 31,5% cao hơn so với mức quy định. Thực tế sản xuất cho thấy, sau 40 ngày lên men có hiện tượng nước đọng xung quanh khối lên men nên cần mở bạt và đánh toi đồng lên men và để nơi khô thoáng khoảng 2 ngày. Kết quả cho thấy, ở thời điểm sau lên men 42 ngày, các chỉ

tiêu chất lượng phân đều đạt so với quy định, cụ thể độ ẩm 27,2%, giá trị pH 7,3, hàm lượng hữu cơ 29,8%, N 1,9%, tỷ lệ C/N 7,1, P₂O₅ 1,0%, K₂O 1,3%. Như vậy, ở quy mô pilot, thời gian lên men tốt nhất cho xử lý bã dong riêng làm phân bón hữu cơ là 42 ngày.

Bảng 4. Một số chỉ tiêu chất lượng phân bón hữu cơ từ bã dong riêng

Chỉ tiêu	Đơn vị	Thời gian lên men (ngày)		Quy định về phân bón hữu cơ theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT [20]
		40	42	
Độ ẩm	%	31,5 ± 0,4	27,2 ± 0,5	≤ 30
pH		7,1 ± 0,16	7,3 ± 0,18	≥ 5
Hữu cơ	%	30,6 ± 0,54	29,8 ± 0,46	≥ 20
C	%	13,9	13,5	
N	%	1,8 ± 0,02	1,9 ± 0,04	Không quy định
C/N		7,7	7,1	≤ 12
P ₂ O ₅	%	1,0 ± 0,01	1,0 ± 0,02	Không quy định
K ₂ O	%	1,3 ± 0,05	1,3 ± 0,03	Không quy định

Đặc điểm cảm quan của sản phẩm phân hữu cơ sau 42 ngày lên men: Màu sắc, độ ẩm, độ toi xốp của sản phẩm phân hữu cơ có sự khác biệt rất nhiều so với lúc ban đầu. Do sự chuyển hóa của các hợp chất hữu cơ nhờ hoạt động của vi sinh vật và các phản ứng hóa lý xảy ra trong quá trình lên men mà bã dong riêng đã có sự thay đổi về trạng

thái vật lý. Sản phẩm phân toi xốp, màu đen và không có mùi.

Sau khi kết thúc quá trình lên men, sản phẩm phân bón hữu cơ từ bã dong riêng được kiểm tra các yếu tố gây hại bao gồm chỉ tiêu vi sinh vật và kim loại nặng. Đây cũng là các chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng phân bón và tính an toàn của sản phẩm. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Chỉ tiêu an toàn của phân bón hữu cơ từ bã dong riêng sau 42 ngày lên men

Chỉ tiêu	Đơn vị	Kết quả	Quy định về phân bón hữu cơ theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT [20]
<i>Salmonella</i>	CFU/g	Không phát hiện	Không phát hiện
<i>E. coli</i>	MPN/g	Không phát hiện	< 1,1 x 10 ³
Asen	mg/kg	Không phát hiện	≤ 10
Chì	mg/kg	0,82	≤ 200
Thủy ngân	mg/kg	Không phát hiện	≤ 2
Cadimi	mg/kg	0,45	≤ 5

Kết quả phân tích cho thấy, sản phẩm phân hữu cơ từ bã dong riêng có các chỉ tiêu vi sinh vật (*Salmonella*, *E. coli*) và kim loại nặng (asen, chì, thủy ngân, cadimi) đạt theo mức quy định về phân bón hữu cơ theo QCVN 01-189:2019/BNNPTNT [20].

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số yếu tố công nghệ trong quá trình lên men bã dong riêng làm phân bón hữu cơ như sau: Tỷ lệ bổ chế phẩm PBDR5-VIAEP 0,2%; tần suất đảo trộn 10 ngày/lần. Sau 42 ngày lên men, phân bón hữu cơ lên men từ bã

đong riêng bằng chế phẩm vi sinh PBDR5-VIAEP có các chỉ tiêu chất lượng đều đạt so với quy định về phân bón hữu cơ theo QCVN 01-189:2019/BNNT, cụ thể độ ẩm 27,2%, giá trị pH 7,3, hàm lượng hữu cơ 29,8%, N 1,9%, tỷ lệ C/N 7,1, P₂O₅ 1,0%, K₂O 1,3%. Sản phẩm phân hữu cơ từ bã dong riêng có các chỉ tiêu vi sinh vật (*Salmonella*, *E. coli*) và kim loại nặng (asen, chì, thủy ngân, cadimi) đạt yêu cầu về giới hạn tối đa cho phép đối với phân bón hữu cơ theo quy định hiện hành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Hoàng Dũng, Huỳnh Văn Hiếu, Trần Duy Dương, Nguyễn Thành Công (2018). Phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose mạnh phục vụ sản xuất chế phẩm phân hủy rơm. *Tạp chí Khoa học công nghệ Việt Nam*, 60(6), 32 - 36.
2. Roman M., Lidia B., Roza B., *et al.* (2018). Screening and identification of *Trichoderma* strains isolated from natural habitats with potential to cellulose and xylan degrading enzymes production. *Polish journal of microbiology*, 67(2), 181 - 190.
3. Mohammed Inuwa Ja afaru (2013). Screening of fungi isolated from environmental samples for xylanase and cellulose production. *Hindawi publishing corporation ISRN microbiology*. Article ID 283423.
4. Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Mỹ Hoa, Đỗ Thị Xuân (2018). Sản xuất và đánh giá hiệu quả phân bón hữu cơ vi sinh từ bùn thải nhà máy sản xuất bia và nhà máy chế biến thủy sản. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 54 (Số chuyên đề: Nông nghiệp), 81 - 89.
5. Trần Thị Ngọc Sơn, Trần Thị Anh Thư, Nguyễn Ngọc Nam, Lưu Hồng Mẫn (2012). Ảnh hưởng của rơm rạ xử lý bằng chế phẩm *Trichoderma* sp. đến năng suất, độ phì nhiêu đất và hiệu quả kinh tế lúa hè thu 2010 tại đồng bằng sông Cửu Long. *Đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ Nông nghiệp và PTNT*.
6. Nguyễn Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Hương Trà, Trần Thị Mai (2013). Nghiên cứu thu nhận chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma* spp. ứng dụng trong bảo quản chuỗi tiêu. *Đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ Nông nghiệp và PTNT*.
7. Nguyễn Thị Hồng Hà, Nguyễn Thị Hương Trà, Lê Thị Trang, Nguyễn Ngọc Huyền, Nguyễn Tuấn, Vũ Thu Diễm, Nguyễn Trọng Uyên, Lê Khánh Linh, Nguyễn Văn Hiếu (2024). Tuyển chọn và định tên chủng nấm có khả năng sinh tổng hợp enzyme cellulase và xylanase. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 18, 34 - 42.
8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7185:2002. Phân bón hữu cơ vi sinh vật
9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9294:2012 Phân bón. Xác định Cacbon tổng số bằng phương pháp Walkley - Black.
10. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8557:2010 Phân bón. Phương pháp xác định nitơ tổng số.
11. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9297:2012 Phân bón. Phương pháp xác định độ ẩm.
12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8562:2010 Phân bón. Phương pháp xác định kali tổng số.
13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8563:2010 Phân bón. Phương pháp xác định photpho tổng số.
14. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 11403:2016 Phân bón. Xác định hàm lượng asen tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử.
15. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9290:2018 Phân bón. Xác định hàm lượng chì tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa và nhiệt điện.
16. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9291:2018 Phân bón. Xác định hàm lượng cadimi tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa và nhiệt điện (không ngọn lửa).
17. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 10676:2015 Phân bón. Xác định hàm lượng thủy ngân tổng số bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử - Kỹ thuật hóa hơi lạnh.
18. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6846:2007 (ISO 7251:2005). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

19. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 10780-1:2017 (ISO 6579-1:2017). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định typ huyết thanh của *Salmonella* - Phần 1: Phương pháp phát hiện *Salmonella* spp.
20. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-189:2019/BNNPTNT. Chất lượng phân bón.

STUDY ON THE EFFECT OF TECHNOLOGICAL FACTORS ON THE DEGRADATION OF ORGANIC MATTER IN *Canna edulis* Ker. RESIDUE USING THE PBDR5-VIAEP MICROBIAL FORMULATION FOR ORGANIC FERTILIZER PRODUCTION

**Nguyen Thi Hong Ha¹, Nguyen Thi Huong Tra¹, Le Thi Trang¹,
Nguyen Ngoc Huyen¹, Nguyen Tuan¹, Vu Thu Diem¹, Nguyen Dinh Manh²**

¹*Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post - Harvest Technology*

²*New Technology Application and Tourism One Member Limited Liability Company*

Abstract

The objective of this study was to identify key technological factors in the fermentation process of *Canna edulis* Ker. residues using the PBDR5-VIAEP microbial formulation for organic fertilizer production. The study determined optimal fermentation conditions, including a supplementation rate of 0,2% PBDR5-VIAEP microbial formulation and a mixing frequency of once every 10 days. After 42 days of fermentation, the resulting organic fertilizer met the quality standards specified in QCVN 01-189:2019/BNNPTNT, with the following parameters: moisture content of 27.2%, pH 7.3, organic matter content of 29.8%, total nitrogen (N) 1.9%, available phosphorus (P_2O_5) 1.0%, and available potassium (K_2O) 1.3%. Additionally, microbial safety indicators (*Salmonella*, *E. coli*) and heavy metal contents (arsenic, lead, mercury, cadmium) complied with the permissible limits for organic fertilizers as regulated by current standards.

Keywords: *Canna edible Ker. Residue, PBDR5-VIAEP microbial formulation, organic fertilizer.*

Ngày nhận bài: 24/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 3/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 30/7/2025

Ngày duyệt đăng: 8/8/2025

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM GIÀU ENZYME LIPASE CHỊU NHIỆT TỪ CHỦNG *Bacillus* sp. BẰNG LÊN MEN BỀ MẶT

Nguyễn Văn Nguyễn^{1,*}, Lê Thị Trang¹, Vũ Thu Diễm¹

¹ Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

* Email: nguyen.cnsth@gmail.com

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu là xác định được một số thông số công nghệ thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp enzyme lipase chịu nhiệt của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 bằng lên men bề mặt (SSF). Tiến hành thực nghiệm lên men chủng với 6 yếu tố được khảo sát gồm: (i) nguồn cơ chất: Bột cám gạo, bột cám lúa và tinh bột sắn; (ii) nguồn các-bon: Glucose, sucrose, tinh bột (gạo), maltose và galactose với tỉ lệ là 2% theo khối lượng; (iii) nguồn nitơ: NH_4Cl , NH_4NO_3 , $\text{NH}_4(\text{H}_2\text{PO}_4)$, cao thịt, pepton và cao nấm men với tỉ lệ là 1% theo khối lượng; (iv) tỉ lệ giống sử dụng cho lên men: 1%, 5%, 10% và 15% (thể tích/khối lượng); (v) độ ẩm cơ chất: 30%, 40%, 50%, 60% và 70%; (vi) thời gian lên men: 24, 48, 72, 96 và 120 giờ. Các thực nghiệm được tiến hành trong bình tam giác 500 ml, độ dày cơ chất 2 cm, nhiệt độ 50°C và thông gió tự nhiên. Kết quả cho thấy, với cơ chất là bột cám gạo, glucose 2%, pepton 1%, tỉ lệ tiếp giống 10%, độ ẩm cơ chất 60% và thời gian lên men 72 giờ là thích hợp cho sản xuất chế phẩm chủng *B. tequilensis* lipase PG2 giàu lipase với mật độ tế bào đạt $3,54 \times 10^9$ cfu/g và hàm lượng lipase đạt 289,55 U/g trong điều kiện thực nghiệm.

Từ khóa: *B. tequilensis* lipase PG2, lipase chịu nhiệt, lên men bề mặt chủng *Bacillus* chịu nhiệt.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Tạp chí Chăn nuôi Việt Nam, trong 10 năm qua, số lượng gia cầm liên tục tăng qua các năm và đạt khoảng 578,1 triệu con năm 2024, ước đạt 598,5 triệu con năm 2025 [1]. Sự chuyển đổi từ chăn nuôi quảng canh truyền thống sang sản xuất chăn nuôi trang trại, quy mô tập trung đang tạo ra khối lượng ngày càng nhiều chất thải, trong đó chăn nuôi gia cầm hàng năm thải ra khoảng 4 - 5 triệu tấn, gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng và các công nghệ hiện tại sử dụng vi sinh vật ưa ấm để phân hủy với thời gian phân hủy quá dài từ 1 - 2 tháng [2], chất lượng sản phẩm ủ không ổn định...

Sự tích tụ nhanh chóng của chất thải chăn nuôi gia cầm cho thấy, quá trình ủ chậm không đáp ứng được yêu cầu tốc độ xử lý hiện tại. Do đó, trong những năm gần đây, việc nghiên cứu các chế phẩm vi sinh vật chịu nhiệt ứng dụng trong xử lý nhanh chất thải chăn nuôi ngày càng được thế giới quan tâm trong đó có chế phẩm vi sinh vật chịu nhiệt ứng dụng phân hủy nhanh các hợp chất hữu

cơ gây ô nhiễm [3]. Trong điều kiện nhiệt độ cao, các vật liệu hữu cơ cũng trở nên rất kém bền vững và giúp hoạt động của các enzyme tiết ra từ vi sinh vật hiệu quả hơn rất nhiều so với ở điều kiện nhiệt độ thường, những đặc điểm này là tiềm năng rất lớn của chế phẩm vi sinh - enzyme chịu nhiệt ứng dụng trong xử lý các chất thải chăn nuôi [4].

Lipit là một trong các thành phần chính gây ô nhiễm trong chất thải chăn nuôi gia cầm với hàm lượng lên đến 9 - 10% [5] và các enzyme lipase là các enzyme chịu trách nhiệm chính đại diện cho nhóm enzyme phân hủy các hợp chất lipit. Trong các chủng vi sinh vật chịu nhiệt, *Bacillus* spp. là các chủng có khả năng chịu nhiệt rất tốt (65 - 70°C) và phổ biến, chiếm tới 90% trong pha nhiệt với khả năng sinh nhiều loại các enzyme và có thể phân giải được hầu hết các hợp chất hữu cơ có trong chất thải đặc biệt là enzyme lipase [6].

Lipase chịu nhiệt cho thấy khả năng chống biến tính hóa học cao, có thể sử dụng trong các quá trình hóa học khác nhau ở nhiệt độ cao và

trong các dung môi hữu cơ và *Bacillus* chịu nhiệt là các chi chủ yếu cho sản xuất các enzyme lipase chịu nhiệt [7] và việc có sẵn các enzyme này trong chế phẩm ở mức độ cao có thể giúp quá trình phân hủy diễn ra được nhanh hơn. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy, để chế phẩm chứa enzyme lipase chịu nhiệt ở mức độ cao, ngoài lựa chọn chủng giống, việc nghiên cứu môi trường dinh dưỡng tối ưu đóng vai trò vô cùng quan trọng [8, 9].

Nhiều nghiên cứu gần đây ủng hộ việc áp dụng quá trình lên men rắn (Solid State Fermentation - SSF) trong sản xuất sinh khối vi sinh vật và enzyme của chúng với chi phí thấp. Vi sinh vật hoặc enzyme được sản xuất theo phương pháp này thường cho khả năng chịu nhiệt tốt hơn so với phương pháp lên men chìm [10, 11]. Bên cạnh đó lên men bề mặt tiết kiệm không gian cần thiết cho lên men, không yêu cầu máy móc phức tạp, năng suất sản phẩm lớn, chi phí ban đầu và chi phí định kỳ thấp trong sản xuất quy mô công nghiệp [12, 13]. Enzyme lipase có thể được sản xuất bởi *Bacillus* lên đến 148,932 U/g cơ chất [14]. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy, nguồn các-bon, nitơ, tỉ lệ tiếp giống, độ ẩm cơ chất, thời gian lên men đóng vai trò quan trọng và quyết định đến sinh tổng hợp lipase [15, 16]. Tại Việt Nam, một số nghiên cứu sản xuất enzyme lipase từ các chủng vi khuẩn *Bacillus* đã được thực hiện, tuy nhiên các công trình chủ yếu dừng lại ở khảo sát trong lên men lỏng và các chủng ưa ấm [17, 18].

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Chủng *B. tequilensis* lipase PG2 sinh lipase chịu nhiệt thuộc quỹ giống của Bộ môn nghiên cứu công nghệ sinh học sau thu hoạch, Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch.

- Môi trường dinh dưỡng cơ sở Luria-Bertani (LB) cho nuôi cấy giống khởi động.

- Hóa chất: Glucose, sucrose, tinh bột, maltose, galactose, pepton, cao thịt, cao nấm men, CaCl_2 , CuSO_4 , MgSO_4 , NH_4Cl , NH_4NO_3 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, isopropanol, p-nitro phenyl acetate, dung dịch đệm Sorenson phosphate 0,05 M (pH 8,0), natri deoxycholate, gum acacia.

- Cám gạo, cám mì, tinh bột sắn, dầu lạc.

- Dụng cụ, thiết bị chính: Ống nghiệm, bình tam giác, hộp petri, pipet các loại...; tủ cấy vô trùng Nuare 425400 E (Đức); tủ nuôi cấy Gyromax TM 747R (Mỹ), khoảng nhiệt: Từ +4°C đến 80°C; kính hiển vi Olympus CH-02 (Nhật Bản); máy li tâm Hermle Z 327 K (Đức); máy quang phổ định lượng Agilent Technology CARY 60 UV-Vis (Malaysia); tủ ẩm Memmert, Đức, Modell 600; cân phân tích Ohaus PR224/E (Trung Quốc), cân kỹ thuật Ohaus PR4202/E (Trung Quốc); nồi hấp thanh trùng Daihan Labtech LAC-5080SD (class N) (Hàn Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

- Ảnh hưởng của nguồn cơ chất: Các cơ chất được sử dụng cho nghiên cứu là cám gạo, cám mì và tinh bột sắn, độ ẩm được điều chỉnh đến 30% bằng nước, hấp khử trùng ở 121°C trong 30 phút. Dầu lạc được bổ sung ở nồng độ 1% theo khối lượng. Tỉ lệ giống sử dụng cho lên men 10%. Điều kiện nuôi cấy là trong bình tam giác, độ dày cơ chất 2 cm, nhiệt độ nuôi cấy 50°C. Sau 4 ngày, mật độ tế bào và hoạt lực enzyme lipase được đánh giá để lựa chọn cơ chất phù hợp cho quá trình lên men [14].

- Ảnh hưởng của nguồn các-bon: Các nguồn các-bon khác nhau như: Glucose, sucrose, tinh bột, maltose và galactose được bổ sung vào môi trường lên men với hàm lượng 2% theo khối lượng. Quá trình lên men được tiến hành ở các điều kiện tương tự như thí nghiệm trước. Lựa chọn nguồn các-bon cho mật độ tế bào chủng và hoạt lực enzyme lipase cao nhất [14].

- Ảnh hưởng của nguồn nitơ: Sau khi lựa chọn được nguồn các-bon thích hợp, tiến hành bổ sung 1% theo khối lượng các nguồn nitơ khác nhau như các nguồn nitơ vô cơ (NH_4Cl , NH_4NO_3 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) và các nguồn nitơ hữu cơ (pepton, cao thịt, cao nấm men). Quá trình lên men được tiến hành ở các điều kiện tương tự như thí nghiệm trước. Lựa chọn nguồn nitơ cho mật độ tế bào chủng và hoạt lực enzyme lipase cao nhất [14].

- Ảnh hưởng của tỉ lệ giống: Môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi lên men kế thừa từ các

kết quả nghiên cứu ở mục 1, 2 và 3. Thay đổi các tỉ lệ giống sử dụng cho lên men (cấp 1 lần vào thời điểm bắt đầu lên men) lần lượt là: 1, 5, 10 và 15% (thể tích/khối lượng). Lựa chọn tỉ lệ giống cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase cao nhất [14].

- Ảnh hưởng của độ ẩm: Môi trường dinh dưỡng và điều kiện lên men kế thừa từ các kết quả nghiên cứu ở mục 1, 2, 3 và 4. Thay đổi độ ẩm cơ chất, lần lượt là 30, 40, 50, 60 và 70%. Lựa chọn độ ẩm cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase cao nhất [14].

- Ảnh hưởng của thời gian lên men: Môi trường và các điều kiện lên men kế thừa kết quả của các nghiên cứu ở mục 1, 2, 3, 4 và 5. Theo dõi sinh trưởng và sinh tổng hợp enzyme lipase trong các khoảng thời gian từ 24, 48, 72, 96 và 120 ngày [14]. Lựa chọn thời gian cho mật độ tế bào chủng và hoạt độ enzyme cao nhất.

2.2.2. Các phương pháp phân tích

- *Xác định mật độ tế bào chủng Bacillus sp.: Theo phương pháp pha loãng hàng loạt [19].*

- *Xác định hoạt độ enzyme:*

+ Chuẩn bị dịch enzyme lipase thô

Sản phẩm sau lên men được trộn đều với 90 mL dung dịch đệm Sorenson phosphate 0,05 M (pH 8,0) và sau đó lắc hỗn hợp trong máy lắc (180 vòng/phút) ở 30°C trong 48 giờ. Enzym thô thu được từ quá trình ly tâm ở 10.000 rpm, 4°C trong 30 phút và được sử dụng để xác định hoạt động của enzym [20, 21].

+ Phương pháp xác định hoạt lực enzyme lipase

10 ml isopropanol chứa 30 mg p-nitro phenyl acetate được trộn với 90 ml dung dịch đệm Sorenson phosphate 0,05 M (pH 8,0), chứa 207,0 mg natri deoxycholate và 100 mg gum acacia. 2,4 ml dung dịch thu sau pha được trộn với 0,1 ml enzyme thô. Sau 15 phút ủ ở 15°C, mật độ quang học được đo ở 410 nm so với đối chứng không có enzyme. Một đơn vị hoạt động của lipase được định nghĩa là lượng enzyme giải phóng 1 mol p-nitro phenol mỗi phút trong điều kiện thử nghiệm [20].

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý thống kê bằng phần mềm Irristat 5.0. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, độ tin cậy khi xử lý số liệu là 95%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nguồn cơ chất

Nguồn các-bon đã được chứng minh có ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng và phát triển của hầu hết các vi sinh vật. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 trên 03 cơ chất khác nhau là cám gạo, cám mì và tinh bột sắn. Với tỉ lệ giống sử dụng là 10%, kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nguồn các-bon đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2

Nguồn các-bon	Mật độ tế bào (cfu/g)	Hàm lượng lipase (U/g)
Cám gạo	1,53 ^a x 10 ⁹	191,33 ^a
Cám mì	1,21 ^b x 10 ⁹	162,31 ^b
Tinh bột sắn	1,04 ^c x 10 ⁶	104,20 ^c

Ghi chú: Chữ viết (a, b, c) trong cùng 1 cột chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức, p<0,05

Kết quả cho thấy, chủng *B. tequilensis* lipase PG2 sinh trưởng tốt trên cả hai môi trường là cám gạo và cám mì với mật độ tế bào khá cao, đạt lần lượt 1,53 x 10⁹cfu/g và 1,21 x 10⁹cfu/g. Tuy nhiên, hàm lượng lipase đạt được trong cám gạo là cao hơn, đạt 193,63 U/g. Trong khi đó, trên cơ chất là cám mì, lượng lipase chỉ đạt 162,31 U/g, điều này có thể do nguồn các-bon là cám gạo và cám mì đều phù hợp cho sinh trưởng của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 nhưng các khoáng chất và dầu cám trong cám gạo là phong phú và phù hợp hơn cho sản xuất lipase. Với nguồn các-bon là tinh bột, sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng nghiên cứu thấp hơn hẳn, mật độ tế bào chỉ đạt 1,0 x 10⁶ cfu/g và hàm lượng lipase chỉ đạt 104,20 U/g. Từ kết quả nghiên cứu trên, cùng với nguyên liệu cám gạo là sẵn có, phổ biến và chi phí thấp ở Việt Nam, nghiên cứu này đã lựa chọn nguồn cơ chất thích hợp cho lên men bề mặt chủng *B. tequilensis* lipase PG2 sinh lipase là cám gạo.

3.2. Ảnh hưởng của các nguồn các-bon

Với mong muốn tạo điều kiện thuận lợi hơn nữa cho sinh trưởng và sinh tổng hợp enzyme lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2, đã tiến hành nghiên cứu bổ sung các nguồn các-bon khác nhau vào môi trường lên men bề mặt. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các nguồn các-bon khác đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2

Nguồn các-bon khác (%)	Mật độ tế bào (cfu/g)	Hàm lượng lipase (U/g)
Glucose	$2,54^a \times 10^9$	210,51 ^a
Sucrose	$1,63^c \times 10^9$	195,12 ^c
Tinh bột (gạo)	$1,24^d \times 10^8$	192,64 ^d
Maltose	$1,72^b \times 10^9$	198,56 ^b
Galactose	$1,85^e \times 10^8$	191,45 ^d

Ghi chú: Chữ viết (a, b, c, d, e) trong cùng 1 cột chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức, $p < 0,05$.

Kết quả cho thấy, bổ sung thêm các nguồn các-bon vào cơ chất cho thấy, glucose đã giúp tăng cường sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng nghiên cứu, lần lượt đạt $2,54 \times 10^9$ cfu/g và đạt 210,51 U/g theo thứ tự. Các nguồn các-bon bổ sung khác cũng có cho cải thiện sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng nghiên cứu nhưng không đáng kể, trong đó glucose cho khả năng sinh trưởng cao nhất, đạt. Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Bayoumi và cs (2007) khi nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn các-bon đến sinh tổng hợp lipase của chủng *B. licheniformis* B - 42 [22]. Từ kết quả nghiên cứu trên, đã lựa chọn nguồn các-bon bổ sung vào cơ chất lên men là glucose để tăng cường cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng nghiên cứu.

3.3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Trong phát triển của các chủng *Bacillus*, nguồn nitơ đã được chứng minh là quan trọng với sự sinh trưởng của chúng. Nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 với ba nguồn nitơ vô cơ và 03 nguồn

nitơ hữu cơ khác nhau với tỉ lệ 1% theo khối lượng cơ chất. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2

Nguồn nitơ	Mật độ tế bào (cfu/g)	Hàm lượng lipase (U/g)
NH ₄ Cl	$2,12^d \times 10^9$	212,52 ^c
NH ₄ NO ₃	$1,54^f \times 10^9$	208,74 ^d
NH ₄ (H ₂ PO ₄)	$1,80^e \times 10^9$	210,42 ^{cd}
Cao thịt	$3,21^b \times 10^9$	213,30 ^c
Pepton	$3,64^a \times 10^9$	226,01 ^a
Cao nấm men	$2,86^c \times 10^9$	217,34 ^b

Ghi chú: Chữ viết (a, b, c, d, e, f) trong cùng 1 cột chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức, $p < 0,05$.

Bảng 3 cho thấy, đã có sự khác biệt về mật độ tế bào trong quá trình nuôi cấy chủng *B. tequilensis* lipase PG2 trên cơ chất có bổ sung các nguồn nitơ khác nhau, trong đó nguồn nitơ hữu cơ cho khả năng sinh trưởng tốt hơn. Cùng với đó, cơ chất được bổ sung nguồn nitơ là hữu cơ là cao thịt, pepton và cao nấm men cùng đã cho kết quả tốt hơn so với cơ chất được bổ sung các nguồn nitơ vô cơ, lần lượt đạt 213,30 U/g; 226,01 U/g; 217,34 U/g, kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Prasad và Sethi (2013) [23]. Từ kết quả nghiên cứu trên, đã lựa chọn nguồn nitơ bổ sung vào cơ chất cho tăng cường sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 là pepton với tỉ lệ 1% theo khối lượng cơ chất.

Sau khi nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố dinh dưỡng là cơ chất, nguồn các-bon, nguồn nitơ đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2, tiếp tục tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện lên men. Kết quả được trình bày ở các mục 3.4, 3.5 và 3.6.

3.4. Ảnh hưởng của tỉ lệ giống sử dụng ban đầu

Tỉ lệ giống sử dụng ban đầu có ảnh hưởng lớn đến tốc độ sinh trưởng của vi sinh vật trong môi trường dinh dưỡng. Bổ sung giống quá ít làm kéo dài thời gian lên men, bổ sung giống quá nhiều không làm tăng tốc độ sinh trưởng thậm chí có thể

làm suy giảm khả năng sinh enzyme của vi sinh vật, điều này làm suy giảm hiệu quả kinh tế của công nghệ [24]. Từ thực tế trên, đã tiến hành nghiên cứu lựa chọn tỉ lệ giống bổ sung vào môi trường dinh dưỡng thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ giống đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2

Tỉ lệ tiếp giống (%)	Mật độ tế bào (cfu/g)	Hàm lượng lipase (U/g)
1	$1,22^c \times 10^7$	86,51 ^c
5	$1,54^b \times 10^7$	187,33 ^b
10	$3,61^a \times 10^9$	225,45 ^a
15	$3,55^a \times 10^9$	224,34 ^a

Ghi chú: Chữ viết (a, b, c) trong cùng 1 cột chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức, $p < 0,05$

Kết quả bảng 4 cho thấy, ở các tỉ lệ giống bổ sung thấp, 1% và 5%, sau 4 ngày lên men, mật độ tế bào và hàm lượng enzyme lipase tổng hợp nhỏ hơn đáng kể, chỉ đạt mật độ tế bào khoảng $1,22 - 1,54 \times 10^7$ cfu/g và hàm lượng lipase chỉ đạt 86,51 - 187,33 U/g. Trong khi đó, ở các tỉ lệ tiếp giống cao hơn, 10% và 15%, chủng *B. tequilensis* lipase PG2 đều sinh trưởng tốt và hàm lượng lipase đạt lần lượt 225,45 U/g và 224,34 U/g. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Abbas và cs (2017) [24] khi nghiên cứu chủng *Bacillus subtilis* là khi tăng tỉ lệ giống có thể giúp tăng tốc độ sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase nhưng đến một tỉ lệ nhất định nhưng việc tăng tỉ lệ giống quá mức có thể làm giảm khả năng sinh enzyme. Điều này do vi sinh vật phát triển quá nhanh và đã sử dụng enzyme tạo ra cho quá trình sinh trưởng. Từ kết quả nghiên cứu trên, đã lựa chọn tỉ lệ tiếp giống thích hợp là 10% cho lên men, sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2.

3.5. Ảnh hưởng của độ ẩm

Chủng *B. tequilensis* lipase PG2 là chủng hiếu khí, do đó oxy là nhân tố quan trọng không thể thiếu trong quá trình sinh trưởng và phát triển. Trong lên men bề mặt, độ ẩm thấp giúp khuếch tán oxy cao nhưng nếu môi trường khô quá mức khiến cho các hoạt động sinh trưởng và trao đổi chất bị

hạn chế, độ ẩm cao chứa hàm lượng nước cao nhưng hàm lượng oxy thường thấp cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của chủng [25]. Do đó, để chủng sinh trưởng và phát triển tốt, việc xác định độ ẩm thích hợp là rất cần thiết. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ ẩm cơ chất đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2 với các yếu tố cố định là tiến hành trong bình tam giác 500 ml, độ dày cơ chất 2 cm, nhiệt độ lên men 50°C và thông gió tự nhiên, môi trường dinh dưỡng sử dụng là kết quả của các nghiên cứu trước là bột cám gạo (cơ chất), glucose 2%, pepton 1%, tỉ lệ tiếp giống 10%. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của độ ẩm cơ chất đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2

Độ ẩm cơ chất (%)	Mật độ tế bào (cfu/g)	Hàm lượng lipase (U/g)
30	$2,40^e \times 10^5$	146,3 ^d
40	$4,51^d \times 10^6$	196,3 ^c
50	$6,70^c \times 10^8$	204,5 ^b
60	$3,53^a \times 10^9$	225,3 ^a
70	$1,27^b \times 10^9$	201,6 ^b

Ghi chú: Chữ viết (a, b, c, d, e) trong cùng 1 cột chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức, $p < 0,05$.

Kết quả cho thấy, sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 tăng dần khi tăng độ ẩm của cơ chất nuôi cấy từ 30 - 60% và đạt cao nhất ở độ ẩm 60%, giảm khi tăng độ ẩm lên 70%. Ở các độ ẩm thấp hơn, 30 - 50%, kết quả phân tích mật độ tế bào và hàm lượng lipase cho thấy, đã ảnh hưởng bất lợi hơn đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Singh và cs (2010) [20] là độ ẩm thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase của chủng *Bacillus* sp. là không quá 70%. Từ kết quả nghiên cứu trên, đã lựa chọn độ ẩm thích hợp cho lên men chủng *B. tequilensis* lipase PG2 thu lipase là 60%.

3.6. Ảnh hưởng của thời gian lên men

Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2, kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến sinh trưởng và sinh tổng hợp lipase chủng *B. tequilensis* lipase PG2

Thời gian lên men (giờ)	Mật độ tế bào (cfu/g)	Hàm lượng lipase (U/g)
24	5,54 ^c x 10 ⁷	56,23 ^c
48	2,26 ^b x 10 ⁸	124,45 ^d
72	3,54 ^a x 10 ⁹	289,55 ^a
96	3,43 ^a x 10 ⁹	225,36 ^b
120	3,50 ^a x 10 ⁹	160,20 ^c

Ghi chú: Chữ viết (a, b, c, d, e) trong cùng 1 cột chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức, p<0,05.

Kết quả cho thấy, trong điều kiện nuôi cấy 50°C, chủng *B. tequilensis* lipase PG2 sinh trưởng rất nhanh ngay sau khi nuôi cấy, cùng với đó, lượng lipase tích lũy cũng tăng theo và đạt cao nhất tại thời điểm 72 giờ sau lên men, đạt mật độ tế bào 3,5 x 10⁹cfu/g và hoạt lực lipase 289,55 U/g. Sau 72 giờ, mật độ tế bào ít thay đổi nhưng hoạt lực lipase lại suy giảm rõ rệt. Kết quả này cũng phù hợp với công bố của của Singh và cs (2010) [20] là hoạt lực sẽ đạt cao nhất sau đó sẽ giảm do enzyme là sản phẩm sơ cấp và cũng tương đồng với công bố của Bayoumi và cs (2007) [22] khi nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men đến sinh tổng hợp lipase của chủng *B. licheniformis* B-42. Từ kết quả nghiên cứu trên, đã lựa chọn thời gian lên men thích hợp là 72 giờ để thu hoạch sản phẩm chủng *B. tequilensis* lipase PG2 với mật độ tế bào và hàm lượng lipase cao nhất.

4. KẾT LUẬN

Trong các cơ chất khảo sát, cám gạo là thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp enzyme lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2.

Với thành phần cơ chất là cám gạo được bổ sung 2% glucose và 1%, peptone theo khối lượng, điều kiện lên men thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp enzyme lipase của chủng *B. tequilensis* lipase PG2 là tỉ lệ tiếp giống 10%, độ ẩm cơ chất 60%, nhiệt độ lên men 50°C, thời gian lên men 72 giờ để sản xuất chế phẩm chủng *B. tequilensis* lipase PG2 giàu lipase. Mật độ tế bào sau lên men đạt 3,54 x 10⁹ cfu/g và hàm lượng lipase đạt 289,55 U/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hà Ngân (2024). Một số kết quả chính của ngành chăn nuôi năm 2024. <https://nhachannuoi.vn/tong-quan-nganh-chan-nuoi-nam-2024/>. Truy cập ngày 10/7/2025.
2. Phạm Văn Toàn (2014). *Báo cáo tổng kết dự án Dự án sản xuất thử nghiệm: “Hoàn thiện công nghệ sản xuất và sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý phế thải chăn nuôi rắn làm phân bón hữu cơ sinh học quy mô công nghiệp*. Chương trình trọng điểm phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực nông nghiệp và phát triển nông thôn đến năm 2020.
3. Mawonga, T. (2016). *Rapid biomax thermophilic composting effects on quality, nutrient release and fertiliser value of chicken litter composts*, Submitted in fulfilment of the academic requirement for the degree of master of science in soil science. School of Agricultural, Earth and Environmental Sciences University of KwaZulu-Natal Pietermaritzburg.
4. Finore, I., Feola, A., Russo, L., Cattaneo, A., Donato, P. D., Nicolaus, B., Poli, A., Romano, I. (2023). Thermophilic bacteria and their thermozymes in composting processes: a review. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 10(7). DOI:10.1186/s40538-023-00381-z
5. Park, J., Cho, K. H., Ligaray, M., Choi, Mi-Jin. (2019). Organic matter composition of manure and its potential impact on plant growth. *Sustainability*, 11, 2346; doi:10.3390/su11082346.
6. Nancy Trautmann và Elaina Olynciw (1996). *Compost Microorganisms*. <https://compost.css.cornell.edu/microorg.html>. Truy cập ngày 10/7/2025.
7. H. Zuridah¹, N. Norazwin¹, M. Siti Aisyah¹, M. N. A. Fakhruzzaman¹ and N. A. Zeenathul (2011). Identification of lipase producing thermophilic bacteria from Malaysian hot springs. *African Journal of Microbiology Research*, 5(21), 3569 - 3573.
8. Ugras, S. (2017). Characterization of a thermophilic lipase from *Bacillus licheniformis* Ht7 isolated from hayran thermal springs in

- Giresun. *Romanian Biotechnological Letters*, 22(1), 12297 - 12306.
9. Bhosale, H., Shaheen, U., Kadam, T., (2016). Characterization of a hyperthermostable Alkaline Lipase from *Bacillus sonorensis* 4R. *Hindawi Publishing Corporation Enzyme Research*, Article ID 4170684.
10. Mateos-Diaz, J. C., Rodriguez, J. A., Roussos, S., Cordova, J., Abousalham, A., Carriere, F. and Baratti, J. (2006). Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5): 1042 - 1050.
11. Zamost, B. L., Nielsen, H. K., Starnes, R. L. (1991). Thermostable enzymes for industrial applications. *Journal of Industrial Microbiology*, 8: 71 - 81.
12. Pandey, A. (1992). Recent process developments in solid-state fermentation. *Process biochemistry*, 27(2): 109 - 117.
13. Pandey, A., Selvakumar, P., & Ashakumary, L. (1996). Performance of a column bioreactor for glucoamylase synthesis by *Aspergillus niger* in SSF. *Process Biochemistry*, 31(1): 43 - 46.
14. Alkan, H., Baysal, Z., Uyar, F., Dogru, M. (2007). Production of lipase by a newly isolated *Bacillus coagulans* under solid-state fermentation using melon wastes. *Applied biochemistry and biotechnology*, 136(2): 183-192.
15. Ananthi, S. U. Y. A. M. B. U., Ramasubburayan, R. A. M. A. S. A. M. Y., Palavesam, A., Immanuel, G. (2014). Optimization and purification of lipase through solid state fermentation by *Bacillus cereus* MSU as isolated from the gut of a marine fish *Sardinella longiceps*. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(5): 291 - 298.
16. Chaturvedi, M., Singh, M., Man, C. R., Pandey, S. (2010). Lipase production from *Bacillus subtilis* MTCC 6808 by solid state fermentation using ground nut oil cakes as substrate. *Research Journal of Microbiology*, 5(8): 725 - 730.
17. Bạch Ngọc Minh, Nguyễn Thị Anh Thư, Nguyễn Thị Thanh Kiều, Huỳnh Hoàn Mỹ (2022). Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn sinh lipase từ nước thải nhà hàng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 67(1): 47 - 51. DOI: 10.31276/VJST.
18. Dương Minh Lam, Vũ Thị Lý (2012). Nghiên cứu tuyển chọn *Bacillus* sinh lipase kiềm từ rừng ngập mặn. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 50(2): 259 - 266.
19. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 14114:2024. Phân bón - Định lượng *Bacillus thuringiensis* bằng kỹ thuật đếm khuẩn lạc
20. Singh, M., Saurav, K., Srivastava, N., Kannabiran, K. (2010). Lipase production by *Bacillus subtilis* OCR-4 in solid state fermentation using ground nut oil cakes as substrate. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(4): 241 - 245.
21. Muthusamy, A., Beslin, L.G. (2018). Extra cellular lipase production, purification and characterization using *Bacillus subtilis* in submerged state fermentation. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 10(2), 7641 - 7645. DOI:10.26717/BJSTR.2018.10.001913
22. Bayoumi, R. A., El-louboudey. S. S., Sidkey. N. M., Abd-El-Rahman, M. A. (2007). Production, purification and characterization of thermoalkalophilic lipase for application in bio-detergent industry. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12): 1752 - 1765.
23. Prasad, M. P., Sethi, R. (2013). Comparative studies on the production of lipase by *Bacillus* species under various growth parameters. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(3), 179 - 185.
24. Abbas, N., Choudhry, S., Abbas, Z., Ali, S. (2017). Lipase production from *Bacillus subtilis* using various agricultural waste. *International Journal of Advanced engineering Management and Science*, 3(5):405 - 409.
25. Pelizer, L. H., Moraes, I. de O. (2012). Influence of Water Activity on Production of *Bacillus thuringiensis* by Solid State Fermentation. *Journal of Food Science and Engineering*, 2: 326 - 335.

**RESEARCH ON PRODUCTION OF HEAT-RESISTANT LIPASE ENZYME PREPARATION FROM
Bacillus sp. STRAIN BY SOLID STATE FERMENTATION****Nguyen Van Nguyen¹, Le Thi Trang¹, Vu Thu Diem¹**¹*Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Postharvest Technology***Abstract**

The purpose of this study was to determine suitable technological parameters for the growth and biosynthesis of heat-resistant lipase enzyme from *B. tequilensis* lipase PG2 via solid state fermentation (SSF). Experimental fermentation of strains was conducted using 6 studied factors: (i) substrate sources: Rice bran powder, paddy bran powder and cassava starch; (ii) carbon sources: Glucose, sucrose, starch (rice), maltose and galactose with a ratio of 2% (w/w); (iii) nitrogen sources: NH_4Cl , NH_4NO_3 , $\text{NH}_4(\text{H}_2\text{PO}_4)$, meat extract, peptone and yeast extract with a ratio of 1% (w/w); (iv) inoculation ratio: 1%, 5% and 10% and 15% (v/w); (v) the substrate moisture content: 30%, 40%, 50%, 60% and 70%; (vi) the fermentation time: 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The experiments were conducted in a 500 ml triangular flask, with a substrate thickness of 2 cm, at 50°C in incubator and natural ventilation. The results showed that the substrate of rice bran powder, 2% glucose (w/w), 1% peptone (w/w), 10% inoculum ratio (v/w), 60% substrate humidity and 72 hours fermentation time were the most suitable for the production of heat-resistant lipase enzyme preparation from *B. tequilensis* lipase PG2 strain with a cell density reached 3.54×10^9 cfu/g and lipase enzyme content reached 289.55 U/g.

Keywords: *B. tequilensis* lipase PG2, heat-resistant lipase, solid state fermentation with heat-resistant *Bacillus* sp. strain.

Ngày nhận bài: 17/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 10/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 20/7/2025

Ngày duyệt đăng: 31/7/2025

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ CÔNG NGHỆ TRONG CHẾ BIẾN ĐẾN CHẤT LƯỢNG CHÈ MATCHA

Nguyễn Tất Thắng¹, Lê Thu Hằng¹, Nguyễn Tiến Nam¹, Vũ Thị Nhị¹, Chu Lê Trang²

¹Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

²Trường Đại học Dược Hà Nội

* Email: thangnt07@yahoo.com.vn

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ trong quá trình chế biến bột chè matcha như diệt men (phương pháp hấp, xào, vi sóng), sấy, (độ dày lớp chè, nhiệt độ sấy), tốc độ nghiền trong quy trình công nghệ sản xuất bột matcha từ giống chè Trung du búp xanh đã được thực hiện trong nghiên cứu này. Nguyên liệu: Búp chè Trung du xanh 1 tôm + 3 lá được thu hái tại phường Phong Châu, tỉnh Phú Thọ. Vườn chè nguyên liệu được che phủ để giảm cường độ chiếu sáng 90% bằng lưới đen trong khoảng thời gian 20 ngày. Nguyên liệu có hàm lượng Polyphenol tổng số 18,62%CK; Catechin tổng số 14,24%CK; L-theanine 5,76 mg/g CK. Kết quả cho thấy, diệt men bằng hấp hơi nước bão hòa ở 100°C, thời gian hấp 2 phút; sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 40°C, độ dày lớp chè sấy 30 mm cho chè có chất lượng tốt nhất, khi đó: hàm lượng Chlorophyll đạt 73,84 mg/g CK; L-theanine 23,56 mg/g CK; Polyphenol tổng số 18,32%CK; Catechin tổng số 12,86%CK; lá chè có màu xanh sáng, khô đều. Chè sau khi được làm khô, được nghiền bằng cối đá với tốc độ nghiền 20 - 25 vòng/phút cho bột matcha chè Trung du xanh có tổng tỷ lệ hạt có kích thước phù hợp với kích thước matcha đạt từ 97,9 - 98,3%. Sản phẩm có màu xanh sáng, hương vị thơm ngậy đặc trưng, kích thước hạt chè matcha nhỏ, mịn, đạt tiêu chuẩn. Sản phẩm bột matcha có độ ẩm 4,38%; hàm lượng chất hoà tan 43,14%CK; hàm lượng Chlorophyll 75,14 mg/g CK; L-theanine là 23,1 mg/g CK; Polyphenol tổng số đạt 18,22%CK; Catechin tổng số 13,93%CK, màu xanh sáng. Chỉ tiêu vi sinh vật: *Coliforms*, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella*: KPH; tổng số vi khuẩn hiếu khí $1,34 \times 10^2$ Cfu/g; tổng số bào tử nấm men, nấm mốc 18 Cfu/25 g. Sản phẩm đạt yêu cầu về an toàn thực phẩm theo quy định của Bộ Y tế.

Từ khóa: Chè Trung du, chè Trung du búp xanh, matcha.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chè (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). [1], chứa nhiều hoạt chất thuộc nhóm catechin (EGCG, EGC, ECG...), caffeine, phenolic axit, quercetin, chlorophyll, theanine. Thành phần sinh hóa chủ yếu trong búp chè bao gồm: Nước, tanin, alkaloid, protein và các axit amin, glucit và pectin, diệp lục và sắc tố, tinh dầu, vitamine, enzyme, chất tro [2].

Chè có nhiều tác dụng tốt cho sức khỏe như hỗ trợ phòng chống ung thư (ung thư gan, dạ dày, phổi, tiền liệt,...); ngăn ngừa bệnh thoái hóa thần kinh (Alzheimer, parkinson); chống lão hóa và bảo vệ tim mạch [3, 4]. Nhờ những phương pháp nghiên cứu hiện đại, các nhà khoa học đã chứng

minh được những tác dụng về mặt dược lý và sinh lý của chè chủ yếu dựa vào khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm và kháng virus của nhóm hợp chất catechin có trong chè, điển hình là epigallocatechin gallate (EGCG).

Matcha là bột trà xanh được sản xuất nhiều ở Nhật Bản và Trung Quốc. Đây là loại thức uống quan trọng trong văn hóa trà đạo của Nhật. Sở dĩ sản phẩm matcha được quan tâm là do chứa một số hoạt chất sinh học có lợi cho sức khỏe. Matcha được biết đến với khả năng kháng oxy hóa và kháng viêm nhờ sự có mặt của epigallocatechin-gallate (EGCG), caffeine, theanine. Ngoài ra, matcha có tác dụng kháng ung thư, kháng virus, bảo vệ tim mạch, bảo vệ rối loạn thoái hóa thần

kinh, tăng cường chức năng nhận thức [5]. Màu sắc và một số hoạt chất sinh học cao là yếu tố để phân biệt bột matcha có chất lượng với sản phẩm trà khác [5]. Ngoài giá trị dinh dưỡng, giá trị cảm quan và màu sắc cũng góp phần ảnh hưởng chất lượng bột matcha [6]. Ngoài ra, trong quá trình chế biến bột matcha, công đoạn diệt men và công đoạn sấy là những công đoạn ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng sản phẩm về phương diện cảm quan và hoạt chất sinh học [7].

Mục đích của nghiên cứu này là xác định được phương pháp diệt men, phương pháp sấy, độ dày lớp chè, nhiệt độ sấy, tốc độ nghiền đến chất lượng bột chè matcha. Chất lượng bột chè matcha được chế biến với các thông số đã lựa chọn từ kết quả của nghiên cứu này cũng được đánh giá thông qua các chỉ tiêu hoá lý (độ ẩm, hàm lượng Chlorophyll, L-theanine, Polyphenol tổng số), cảm quan (màu, mùi, vị) và vi sinh. Thành công của nghiên cứu sẽ góp phần cải thiện sinh kế cho người trồng chè tại địa phương cũng như doanh nghiệp chế biến các sản phẩm từ chè.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Búp chè Trung du xanh (*Camellia sinensis* var. *Macrophylla*) (1 tôm + 3 lá) được thu hái tại phường Phong Châu, tỉnh Phú Thọ. Vườn chè nguyên liệu được che phủ để giảm cường độ chiếu sáng của ánh sáng mặt trời tới 90% bằng lưới đen trong khoảng thời gian 20 ngày. Khi đó, cây chè chỉ nhận được từ 5 - 10% ánh sáng mặt trời để hạn chế sự quang hợp của cây chè trong một khoảng thời gian nhất định [8]. Trong thời gian này, lá chè tích lũy nhiều hợp chất hóa học có lợi cho chất lượng của chè như các hợp chất Polyphenol, Caphein, Chlorophyll, đặc biệt là hàm lượng L-theanine tăng đáng kể [9]; không làm ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng phát triển của cây chè [10]).

Búp chè được lựa chọn (loại bỏ những búp bị sâu, bệnh, dập nát) và tiến hành ngay các thí nghiệm chế biến sau khi lựa chọn.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Hoá chất: Cồn 100% (VN), Chloroform (Trung Quốc), nước cất, NH₄OH (Trung Quốc),

HCl (Trung Quốc); chất chuẩn: EC, ECG, EGC, EGCG, axit gallic, L-theanine (Sigma-Aldrich). Folin-Ciocalteu, methanol, ethanol, natri cacbonat, EDTA, axit ascorbic, acetonitrile, axit axetic, axit sunfuric, natri hydroxit, n-hexane, magie oxit, n-heptan, 6-aminoquinolyl-N-hydroxy-succinimidyl carbamat, DPPH, axit (S)-(-)-6 hydroxy-2,5,7,8-tetrametyl-chroman-2-carboxylic (Đức), aceton (Trung Quốc), nước khử ion (Việt Nam).

- Thiết bị và dụng cụ: Hệ thống cô quay chân không (Buchi Rotavapor R-200, Đức). Sắc ký lớp mỏng, thiết bị xào diệt men (Trung Quốc), thiết bị diệt men vi sóng (Trung Quốc), thiết bị hấp hơi nước bão hòa (ED2000, Đài Loan), tủ sấy thường (Memmert UF160, Đức), máy sấy bơm nhiệt (Việt Nam), cối đá, máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (Shimadzu, Kyoto, Nhật Bản). Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất, kéo, gang tay, khẩu trang và quần áo bảo hộ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Quy trình chế biến Matcha

Matcha được chế biến theo quy trình:

Lựa chọn nguyên liệu → Héo nhẹ → Diệt men → Sấy → Tách gân lá → Nghiền mịn → Đóng gói → Bột matcha thành phẩm [11].

Búp chè Trung du xanh (1 tôm 3 lá) được héo nhẹ ở điều kiện tự nhiên trên nông, phen, liếp với độ dày 2 – 3 cm, trong khoảng thời gian 2 - 4 giờ. Tiếp theo chè được diệt men bằng phương pháp hấp hơi nước bão hòa, phương pháp xào và phương pháp dùng vi sóng. Kết thúc quá trình diệt men, đưa chè vào sấy trong thiết bị sấy thường hoặc sấy bơm nhiệt đến độ ẩm <5%. Sau đó, chè được tách gân và gân lá; nghiền chè bằng cối đá ở tốc độ nghiền 20 - 25 vòng/phút đến kích thước hạt bột chè xanh dạng matcha < 20 µm, nhỏ, mịn, có màu xanh lá cây tự nhiên, thơm đặc trưng mùi matcha. Đóng gói chân không trong bao bì thiếc, bảo quản ở nơi khô ráo, tránh ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp.

Trong phạm vi bài báo này, chỉ đề cập nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ ở một số công đoạn chính như diệt men, sấy và nghiền đến chất lượng sản phẩm matcha.

2.3.2. Phương pháp thực nghiệm

- *Xác định ảnh hưởng của phương pháp diệt men đến chất lượng bột chè matcha. Diệt men bằng 3 phương pháp khác nhau*

Hấp bằng hơi nước bão hòa: Hấp ở 100°C với 4 mức thời gian (1, 2, 3 và 4 phút). Xào diệt men: Xào ở 4 mức nhiệt độ (nhiệt độ trong khối chè: 60°C, 70°C, 80°C và 90°C) với thời gian xào là 2 phút. Diệt men bằng vi sóng: Ở công suất vi sóng 1.130 W với 4 mức thời gian diệt men là 1, 2, 3 và 4 phút. Khối lượng mẫu 10 kg nguyên liệu tươi/công thức (3 lần nhắc lại).

- *Xác định ảnh hưởng của phương pháp sấy đến chất lượng của bột chè matcha*

Sấy bằng không khí nóng (sấy đối lưu), sấy bơm nhiệt. Sấy ở nhiệt độ 50°C, với độ dày lớp chè 20 mm. Khối lượng mẫu 10 kg nguyên liệu tươi/công thức (3 lần nhắc lại).

- *Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng của bột chè matcha*

Nhiệt độ sấy là 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, độ dày lớp chè 20 mm. Khối lượng mẫu 10kg nguyên liệu tươi/công thức (3 lần nhắc lại).

- *Xác định ảnh hưởng của độ dày lớp chè sấy đến chất lượng của bột chè matcha*

Độ dày lớp chè sấy là 10 mm, 20 mm, 30 mm, 40 mm và 50 mm. Sấy ở nhiệt độ 40°C. Khối lượng mẫu 10 kg nguyên liệu tươi/công thức (3 lần nhắc lại).

- *Xác định ảnh hưởng của tốc độ nghiền chè đến chất lượng của bột chè matcha*

Tốc độ nghiền chè là 10, 15, 20, 25 và 30 vòng/phút. Nghiền ở nhiệt độ phòng.

f) Đánh giá chất lượng sản phẩm bột matcha giống chè Trung du búp xanh

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng Chlorophyll (mg/g CK), L-theanine (mg/g CK), Polyphenol tổng số (% CK), Catechin tổng số (% CK). Chỉ tiêu cảm quan và vi sinh vật.

2.3.3. Phương pháp phân tích và kỹ thuật sử dụng

- TCVN 5613:2007, Chè - Xác định hao hụt khối lượng ở 103°C [12].

- TCVN 9738:2013, Chè - Chuẩn bị mẫu nghiền và xác định hàm lượng chất khô [13].

- Phân tích định lượng Polyphenol tổng số, Catechin tổng số trong lá chè Trung du búp xanh bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [14].

- TCVN 13283:2021, Thực phẩm - Xác định hàm lượng chlorophyll tổng số bằng phương pháp quang phổ [15].

- TCVN 13011:2020, Chè và sản phẩm chè - Xác định hàm lượng theanin trong chè và chè hòa tan dạng rắn sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao [16].

- TCVN 5610:2007, Chè - Xác định hàm lượng chất chiết trong nước [17].

- Kiểm tra hoạt tính enzym peroxidaza bằng oxymetylbenzen và H₂O₂ 1%.

- TCVN 6846:2007, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất [18].

- TCVN 4884-1:2015, Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa [19].

- TCVN 8275-2:2010, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95 [20].

2.3.4. Phân tích thống kê

Kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA và kiểm định LSD (5%) để so sánh sự khác biệt trung bình giữa các nghiệm thức và sự biến động giữa các lần lặp lại trong cùng nghiệm thức theo thời gian. Các phân tích thống kê sử dụng phần mềm SPSS 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chất lượng của nguyên liệu giống chè Trung du búp xanh

Búp chè Trung du xanh (1 tôm + 3 lá) được thu hái vụ hè, tại phường Phong Châu, tỉnh Phú Thọ. Chất lượng của nguyên liệu búp chè Trung du xanh được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Chất lượng của nguyên liệu giống chè Trung du búp xanh

TT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Hàm lượng
A	Cảm quan		
1	Màu sắc lá chè	Xanh tự nhiên	
2	Hương thơm	Thơm tự nhiên	
3	Hình thức	1 tôm 3 lá	
B	Lý hoá		
1	Chất hoà tan	%CK	44,25
2	Chlorophyl	mg/g CK	34,22
3	Polyphenol tổng số	%CK	18,62
4	Catechin tổng số	%CK	14,24
5	L-theanin	mg/g CK	5,76

Chất lượng của nguyên liệu giống chè Trung du búp xanh 1 tôm 3 lá như sau: Màu sắc lá chè xanh tự nhiên, hương thơm tự nhiên, hàm lượng chất hoà tan 44,25%CK; Chlorophyl 34,22 mg/gCK; Polyphenol tổng số 18,62%CK; Catechin tổng số 14,24%CK; L-theanin 5,78 mg/g CK.

Theo Giang Trung Khoa và cs (2013), hàm lượng chất hoà tan trong nguyên liệu giống chè Trung du 1 tôm 3 lá đạt 45,17%CK; polyphenol tổng số đạt 21,73%CK; catechin tổng số đạt 15,93%CK. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015)

[10] khi nghiên cứu chế biến chè matcha từ 02 giống chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên cho kết quả Chlorophyl 34,95 mg/g CK và L-theanin 5,87 mg/g CK.

3.2. Ảnh hưởng của diệt men bằng phương pháp hấp hơi nước bão hòa đến chất lượng chè matcha

Sau khi héo sơ bộ, chè được cho vào nồi hấp để hấp diệt men. Xác định hoạt tính men Peroxidaza và chỉ tiêu cảm quan (vị, màu sắc của lá chè). Kết quả thí nghiệm thu được ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của diệt men bằng hấp hơi nước bão hòa đến chất lượng chè matcha

Tên chỉ tiêu	Thời gian hấp (phút)			
	1	2	3	4
Tỷ lệ men Peroxidaza bị ức chế (%)	93 ^b	98 ^a	99 ^a	100 ^a
Hoạt tính men Peroxidaza	Còn hoạt tính	Mất hoạt tính	Mất hoạt tính	Mất hoạt tính
Hương thơm	Hăng ngái	Hơi hăng	Hơi hăng	Hăng yếu
Màu sắc lá chè	Xanh	Xanh	Hơi vàng	Vàng
Nhận xét lá chè	Diệt men chưa tới mức, mùi của chè còn ngái, lá chè màu xanh.	Diệt men tới mức, không có mùi ngái, lá chè màu xanh.	Diệt men quá mức, lá chè màu hơi vàng.	Diệt men quá mức, lá chè màu vàng, lá bị mềm nhũn.

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Kết quả bảng 2 cho thấy, thời gian diệt men 1 phút, chè diệt men chưa triệt để, mùi của chè còn hăng ngái. Khi diệt men ở thời gian 3 phút và 4 phút, chè bị diệt men quá mức. Mặc dù hoạt tính men không còn nhưng màu sắc lá chè bị vàng. Nguyên nhân là dưới tác dụng của nhiệt độ cao, màu xanh Chlorophyll bị mất đi do Protein bị đông tụ làm cho liên kết Chlorophyll và Protein tham gia vào phản ứng tạo ra Pheophytin, mà pheophytin có màu vàng. Khi diệt men ở 2 phút cho kết quả hoạt tính men mất hoàn toàn và chè không có mùi ngái, lá chè màu xanh. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015) [10] khi

nghiên cứu chế biến chè matcha từ 02 giống chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên cho kết quả thời gian hấp diệt men 2 phút là phù hợp vì hoạt tính men mất hòa toàn và chè không có mùi ngái. Như vậy, diệt men bằng phương pháp hấp nước bão hòa ở 100°C và thời gian 2 phút là thích hợp để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của diệt men bằng phương pháp xào đến chất lượng chè matcha

Sau khi héo sơ bộ, chè được xào để diệt men. Xác định hoạt tính men Peroxidaza và chỉ tiêu cảm quan (hương thơm, màu sắc của lá chè). Kết quả thí nghiệm thu được ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của diệt men bằng phương pháp xào đến chất lượng chè matcha

Tên chỉ tiêu	Nhiệt độ xào (°C)			
	60	70	80	90
Tỷ lệ men Peroxidaza bị ức chế (%)	63 ^d	87 ^c	93 ^b	99 ^a
Hoạt tính men Peroxidaza	Còn hoạt tính	Còn hoạt tính	Mất hoạt tính	Mất hoạt tính
Hương thơm	Hăng ngái	Hơi hăng	Thơm đặc trưng	Thơm nhẹ
Màu sắc lá chè	Xanh	Xanh hơi đen	Xanh lá cây	Xanh đậm
Nhận xét lá chè	Diệt men chưa tới mức, mùi của chè hăng ngái, lá chè màu xanh hơi tươi.	Diệt men chưa tới mức, mùi của chè ngái, lá chè màu xanh hơi tươi.	Diệt men tới mức, lá chè màu xanh hơi đen, cuộng mềm dẻo, mùi thơm đặc trưng.	Diệt men quá mức, lá chè hơi khô màu xanh bị đen, cuộng mềm dẻo, mùi thơm nhẹ.

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy: Với nhiệt độ xào diệt men là 60°C và 70°C trong khối chè, chất lượng chè diệt men chưa đạt yêu cầu, men Peroxidaza vẫn còn hoạt tính, màu sắc lá chè xanh hơi tươi, mùi chè hăng ngái. Khi nhiệt độ xào tăng lên 80°C trong khối chè, lúc này chè bị diệt men hoàn toàn, màu sắc lá chè xanh hơi đen, lá và cuộng chè mềm dẻo, mùi thơm đặc trưng rõ của chè diệt men, đảm bảo giữ được các tính chất đặc trưng về cảm quan cho sản phẩm sau này. Tuy nhiên, nếu tăng nhiệt độ xào diệt men lên 90°C, ở nhiệt độ này chè bị diệt men quá mức nên ảnh hưởng đến chất lượng của chè bị

diệt men, hương thơm giảm dần. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015) [10] khi nghiên cứu diệt men bằng phương pháp xào ở nhiệt độ 80°C trên chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên cho kết quả chè được diệt men tới mức, hoạt tính men mất hoàn toàn, chè sau diệt men cho chất lượng tốt nhất về hương thơm và màu sắc; đồng thời thuận lợi cho các công đoạn chế biến chè matcha tiếp theo. Do vậy, diệt men bằng phương pháp xào ở nhiệt độ 80°C, thời gian xào 2 phút là phù hợp cho các công đoạn chế biến chè matcha tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của diệt men bằng phương pháp vi sóng đến chất lượng chè matcha

Thời gian diệt men bằng vi sóng là 2, 3, 4 phút, công suất vi sóng 1.130 W. Xác định Hoạt tính men

Peroxidaza và chỉ tiêu cảm quan (hương thơm, màu sắc lá chè). Kết quả thí nghiệm thu được ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian diệt men bằng vi sóng đến chất lượng chè matcha

Tên chỉ tiêu	Thời gian diệt men (phút)		
	2	3	4
Tỷ lệ men Peroxidaza bị ức chế (%)	88 ^b	98 ^a	99 ^a
Hoạt tính men Peroxidaza	Còn hoạt tính	Mất hoạt tính	Mất hoạt tính
Hương thơm	Hơi hăng ngái	Thơm đặc trưng	Thơm nhẹ
Màu sắc lá chè	Xanh tối màu	Xanh	Xanh hơi đen
Nhận xét lá chè	Diệt men chưa tới mức, mùi hăng ngái, lá chè xanh tối màu.	Diệt men chín đều, mùi thơm đặc trưng, lá chè màu xanh.	Diệt men quá mức, mùi thơm nhẹ, lá chè màu xanh hơi đen.

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Bảng 4 cho thấy, khi thời gian diệt men bằng vi sóng là 2 phút, chất lượng chè diệt men chưa tốt, hoạt tính men vẫn còn, màu sắc lá chè xanh tối màu, mùi hăng ngái. Khi tăng thời gian diệt men vi sóng là 3 phút thì hoạt tính men pe-roxidaza không còn nữa, lá chè chín đều, màu xanh và đặc biệt có mùi thơm đặc trưng của chè diệt men. Kéo dài thời gian lên 4 phút, chè bị diệt men quá mức, mặc dù vẫn có mùi thơm đặc trưng nhưng màu sắc lá chè chuyển từ xanh sang xanh hơi đen, không thích hợp cho sản phẩm bột chè xanh dạng matcha. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015) [10] khi nghiên cứu diệt men bằng vi sóng ở thời gian 3 phút trên chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên

cho kết quả chè được diệt men tới mức, hoạt tính men mất hoàn toàn, màu sắc lá chè xanh phù hợp với sản phẩm bột chè xanh dạng matcha. Do vậy, diệt men bằng vi sóng với thời gian 3 phút là phù hợp cho các công đoạn chế biến chè matcha tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của một số phương pháp diệt men đến chất lượng chè matcha

Tiến hành so sánh hiệu quả của 3 phương pháp diệt men ở điều kiện như sau: Hấp hơi nước bão hòa (nhiệt độ hấp 100°C, thời gian hấp 2 phút); Xào (nhiệt độ xào 80°C; thời gian xào 2 phút); Vi sóng (công suất vi sóng 1.130 W, thời gian vi sóng 3 phút). Kết quả thí nghiệm thu được ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các phương pháp diệt men khác nhau đến chất lượng chè matcha

TT	Tên chỉ tiêu	Phương pháp diệt men		
		Xào	Vi sóng	Hấp
1	Tỷ lệ ức chế Peroxidaza (%)	95 ^b	98 ^a	99 ^a
2	Hàm lượng chất hoà tan (%)	44,49 ^b	44,27 ^b	48,31 ^a
3	Chlorophyll (mg/g CK)	72,4 ^c	74,5 ^b	81,7 ^a
4	Polyphenol tổng số (%CK)	19,83 ^b	20,52 ^{ab}	21,21 ^a

5	Catechin tổng số (%CK)	14,47 ^b	15,18 ^{ab}	15,90 ^a
6	L-theanin (mg/g CK)	23,91 ^b	25,12 ^b	25,31 ^a
7	Hoạt tính men Peroxidaza	Mất hoạt tính	Mất hoạt tính	Mất hoạt tính

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Bảng 5 cho thấy, đối với cả 3 phương pháp diệt men, chè được diệt men hoàn toàn, men peroxidaza bị mất hoàn toàn hoạt tính. Tuy nhiên, kết quả diệt men bằng phương pháp hấp hơi nước bão hoà (ở 100°C) cho hàm lượng L-theanine và Chlorophyll trong chè là cao hơn. Hàm lượng L-theanine của phương pháp xào, vi sóng và hấp lần lượt là 23,91 mg/g CK; 25,12 mg/g CK và 25,31 mg/g CK. Hàm lượng Chlorophyll lần lượt là 72,4 mg/g CK; 74,5 mg/g CK và 81,7 mg/g CK. Do vậy, diệt men bằng phương pháp hấp hơi nước bão hoà cho chất lượng sản phẩm cao hơn. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Toàn và cs (2023) [21] khi nghiên cứu ảnh hưởng của diệt men bằng công nghệ hấp hơi nước bão hoà đến một số thành

phần hóa học của chè xanh giống PH8 và LCT1 như chất hòa tan, đường, tanin. Màu sắc, hương vị và hình dạng chè sau khi diệt men hầu như không thay đổi. Như vậy, diệt men bằng hấp hơi nước bão hoà ở 100°C, thời gian hấp 2 phút là phù hợp cho các công đoạn chế biến chè matcha tiếp theo.

3.6. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của phương pháp sấy đến chất lượng của bột chè matcha

Thực nghiệm ảnh hưởng của phương pháp sấy đến chất lượng của bột chè matcha. Bố trí thí nghiệm gồm 2 công thức: Sấy bằng không khí nóng (sấy thường) và sấy bơm nhiệt. Sấy ở nhiệt độ 50°C, thời gian sấy 180 phút, độ dày lớp chè 20 mm. Kết quả được trình bày tại bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của phương pháp sấy đến chất lượng của chè matcha

TT	Tên chỉ tiêu	Phương pháp sấy	
		Sấy thường	Sấy bơm nhiệt
1	Chlorophyll (mg/g CK)	69,34 ^b	72,63 ^a
2	Polyphenol tổng số (%CK)	17,52 ^b	18,19 ^a
3	Catechin tổng số (%CK)	12,02 ^b	12,68 ^a
4	L-theanin (mg/g CK)	20,40 ^b	23,10 ^a
5	Độ ẩm của sản phẩm (%)	4,4	4,2
6	Nhận xét lá chè	Lá chè có màu xanh, khô đều	Lá chè có màu xanh sáng, khô đều

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Bảng 6 cho thấy, khi sấy bằng phương pháp sấy bơm nhiệt hàm lượng L-theanine và Chlorophyll đều cao hơn, lá chè khô và có màu xanh sáng so với mẫu sấy bằng phương pháp sấy thường. Hàm lượng Chlorophyll và L-theanine ở mẫu chè sấy thường là 69,34 mg/g CK và 20,40 mg/g CK; ở mẫu sấy bơm nhiệt là 72,63 mg/g CK và 23,10 mg/g CK. Điều này cho thấy hàm lượng Chlorophyll và L-theanine trong mẫu chè của

phương pháp sấy thường có thời gian sấy lâu bị tổn thất nhiều hơn so với mẫu chè khi sấy bơm nhiệt. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015) [10] khi nghiên cứu sấy chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên bằng phương pháp sấy bơm nhiệt cho kết quả bảo đảm được hàm lượng Chlorophyll, L-theanine và giữ được màu sắc xanh sáng của lá chè. Như vậy, phương pháp sấy bơm nhiệt được

lựa chọn để nghiên cứu tiếp theo trong công nghệ chế biến chè matcha.

3.7. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng của bột chè matcha

Bố trí thí nghiệm sấy ở nhiệt độ 30°C (thời gian sấy 240 phút), 40°C (thời gian sấy 210 phút) và 50°C (thời gian sấy 180 phút), độ dày lớp chè 20 mm. Kết quả được trình bày tại bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng của chè matcha

TT	Tên chỉ tiêu	Nhiệt độ sấy (°C)		
		30	40	50
1	Chlorophyll (mg/g CK)	72,92 ^a	73,86 ^a	72,63 ^a
2	Polyphenol tổng số (%CK)	18,32 ^a	18,36 ^a	18,10 ^a
3	Catechin tổng số (%CK)	12,54 ^a	12,81 ^a	12,68 ^a
4	L-theanine (mg/g CK)	23,46 ^a	23,62 ^a	23,10 ^a
5	Độ ẩm của sản phẩm (%)	4,3	4,3	4,2
6	Nhận xét lá chè	Lá chè có màu xanh, khô đều.	Lá chè có màu xanh sáng, khô đều.	Lá chè có màu xanh sáng, khô đều

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Bảng 7 cho thấy, mẫu chè sấy ở nhiệt độ 30°C có hàm lượng Chlorophyll và L-theanine thấp nhất tương ứng là 72,92 mg/g CK và 23,46 mg/g CK. Với khoảng thời gian sấy quá dài là nguyên nhân chính làm cho hàm lượng Chlorophyll và L-theanine giảm, đồng thời đây cũng là nguyên nhân dẫn đến màu xanh của lá chè không sáng. Mẫu chè sấy ở nhiệt độ 40°C cho hàm lượng Chlorophyll và L-theanine cao nhất tương ứng là: 33,86 mg/g CK và 23,62 mg/g CK. Khi nhiệt độ sấy tăng lên 50°C mặc dù thời gian sấy ngắn hơn nhưng lá chè bắt đầu bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ nên dẫn đến hàm lượng Chlorophyll và L-theanine giảm so với mẫu sấy ở nhiệt độ 40°C. Kết quả

nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Uyên (2015) khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng của hai giống chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên, đối với mẫu chè sấy ở nhiệt độ 40°C đều cho hàm lượng Chlorophyll và L-theanine của 2 giống chè cao nhất tương ứng là: 23,82 mg/g CK và 75,56 mg/g CK đối với giống chè Phúc Vân Tiên; 24,87 mg/g CK và 76,75 mg/g CK đối với giống chè Kim Tuyên [10]. Như vậy, sấy chè ở nhiệt độ 40°C được lựa chọn để nghiên cứu tiếp theo trong công nghệ chế biến chè matcha.

3.8. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của độ dày lớp chè đến chất lượng của bột chè matcha

Bảng 8. Ảnh hưởng của độ dày lớp chè sấy đến chất lượng của chè matcha

TT	Tên chỉ tiêu	Độ dày lớp chè (mm)			
		10	20	30	40
1	Chlorophyll (mg/g CK)	73,82 ^a	73,86 ^a	73,84 ^a	71,66 ^b
2	Polyphenol tổng số (%CK)	18,30 ^a	18,36 ^a	18,32 ^a	17,20 ^b
3	Catechin tổng số (%CK)	12,90 ^a	12,88 ^a	12,86 ^a	11,78 ^b
4	L-theanine (mg/g CK)	23,48 ^a	23,62 ^a	23,56 ^a	21,42 ^b
5	Độ ẩm của sản phẩm (%)	3,8	4,3	4,5	5,4
6	Nhận xét lá chè	Lá chè có màu xanh, khô đều.	Lá chè có màu xanh sáng, khô đều.	Lá chè có màu xanh sáng, khô đều.	Lá chè có màu xanh, chè khô.

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng ít nhất một chữ giống nhau thì không khác nhau ($\alpha \leq 0,05$)

Bố trí thí nghiệm với độ dày lớp chè sấy là 10 mm, 20 mm, 30 mm và 40 mm, sấy ở nhiệt độ 40°C, thời gian sấy 210 phút. Kết quả được trình bày tại bảng 8.

Kết quả bảng 8 cho thấy: Độ dày lớp chè khi sấy từ 10 - 30 mm, lá chè khô đều và có màu xanh sáng, so với những mẫu chè được sấy ở độ dày 40 mm mặc dù lá chè khô, nhưng màu sắc lá chè chỉ là màu xanh không sáng. Điều này là do, với độ dày lớp chè 40 mm, độ dày quá lớn nên làm giảm khả năng thoát ẩm của khối chè, từ đó dẫn tới quá trình tự oxy hóa diễn ra và kéo dài thời gian sấy làm giảm giá trị cảm quan của chè. Tuy nhiên, với độ dày lớp chè khi sấy từ 10 - 20 mm, năng suất thấp, hiệu quả kinh tế không cao. Vì vậy, lựa chọn

độ dày lớp chè sấy là 30 mm là thích hợp. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015) [10] khi nghiên cứu ảnh hưởng của độ dày lớp chè sấy đến chất lượng của chè matcha đã lựa chọn độ dày lớp chè sấy là 30 mm đối với chè Phúc Vân Tiên và Kim Tuyên là phù hợp. Như vậy, độ dày lớp chè sấy là 30 mm được lựa chọn để nghiên cứu tiếp theo trong công nghệ chế biến chè matcha.

3.9. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tốc độ nghiền đến chất lượng của bột chè matcha

Bố trí thí nghiệm với tốc độ nghiền là 10, 15, 20, 25 và 30 vòng/phút, nghiền ở nhiệt độ phòng. Kết quả được trình bày tại bảng 9.

Bảng 9. Ảnh hưởng của tốc độ nghiền đến năng suất và kích thước hạt bột chè matcha

TT	Tốc độ nghiền (vòng/phút)	Năng suất (g/giờ)	Tỷ lệ kích thước hạt (%)			
			5 - 10 μ m	10 - 15 μ m	15 - 20 μ m	> 20 μ m
1	10	30,5	47,6	49,9	2,0	0,5
2	15	33	38,8	56,0	4,1	1,1
3	20	35	34,7	58,0	5,6	1,7
4	25	41,5	31,0	60,9	6,0	2,1
5	30	41,5	19,2	64,5	10,7	5,6

Bảng 9 cho thấy, ở tốc độ nghiền nhỏ nhất 10 vòng/phút cho tỷ lệ kích thước hạt từ 5 - 10 μ m là cao nhất đạt 47,6%, tỷ lệ kích thước hạt > 20 μ m là nhỏ nhất đạt 0,5%. Ở tốc độ nghiền lớn nhất 30 vòng/phút cho tỷ lệ kích thước hạt từ 5 - 10 μ m là thấp nhất đạt 19,2%, tỷ lệ kích thước hạt > 20 μ m là cao nhất đạt 5,6%. Với tốc độ nghiền trung bình 20 - 25 vòng/phút cho tỷ lệ kích thước hạt từ 5 - 10 μ m đạt 31,0 - 34,7%, tỷ lệ kích thước hạt > 20 μ m cũng chỉ đạt 1,7 - 2,1%; tổng tỷ lệ hạt có kích thước phù hợp với kích thước matcha vẫn đạt từ 97,9 - 98,3%. Khi tốc độ nghiền tăng, năng suất nghiền cũng tăng. Khi tốc độ nghiền tăng từ 20 - 25 vòng/phút thì năng suất nghiền đạt từ 35 - 41,5 g/giờ. Nhưng khi tốc độ nghiền là 30 vòng/phút thì năng suất cũng chỉ đạt được 41,5 g/giờ không tăng so với 25 vòng/phút. Ngoài ra, tốc độ nghiền chậm còn

làm giảm lực ma sát từ đó làm giảm lượng nhiệt sinh ra trong khối chè giúp cho bột chè matcha có màu xanh sáng cùng với hương vị ngon ngậy đặc trưng của sản phẩm. Kết quả của nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Thanh Quyên (2015) [10] khi nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ nghiền đến chất lượng của chè matcha đã lựa chọn tốc độ nghiền 10 - 25 vòng/phút là phù hợp cho kích thước hạt chè matcha nhỏ, mịn, đạt tiêu chuẩn. Như vậy, tốc độ nghiền 20 - 25 vòng/phút, năng suất đạt 35 - 41,5 g/giờ là phù hợp cho chế biến chè matcha.

3.10. Đánh giá chất lượng sản phẩm bột matcha chè Trung du búp xanh

Chất lượng của sản phẩm bột matcha chè Trung du búp xanh được đánh giá thông qua phân tích các chỉ tiêu hóa lý và vi sinh vật. Kết quả được thể hiện ở bảng 10.

Bảng 10. Một số chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm bột matcha

TT	Tên chỉ tiêu	Hàm lượng	Phương pháp thử
A	Chỉ tiêu hoá lý		
1	Độ ẩm (%)	4,38	TCVN 5613:2007 [12]
2	Chlorophyll (mg/g CK)	75,14	TCVN 13283:2021 [15]
3	L-theanine (mg/g CK)	23,1	TCVN 13011:2020 [16]
4	Polyphenol tổng số (% CK)	18,22	TCVN 9745-1 [22]
5	Catechin tổng số (% CK)	13,93	TCVN 9745-2:2013 [23]
6	Chất hoà tan (% CK)	43,14	TCVN 5610:2007 [17]
7	Kích thước hạt chè (µm)	<20	
B	Chỉ tiêu vi sinh vật		
1	<i>Coliforms</i>	KPH	TCVN 6846:2007 [18]
2	<i>E. coli</i>	KPH	TCVN 6846:2007 [18]
3	<i>S. aureus</i>	KPH	TCVN 6846:2007 [18]
4	<i>Salmonella</i>	KPH	TCVN 6846:2007 [18]
5	Tổng số vi khuẩn hiếu khí (Cfu/g)	1,34x10 ²	TCVN 4884-1:2015 [19]
6	Tổng số bào tử nấm men, nấm mốc (Cfu/25 g)	18	TCVN 8275-2:2010 [20]

Sản phẩm bột matcha có độ ẩm thấp 4,38%, màu xanh sáng. Hàm lượng Chlorophyll là 75,14 mg/g CK, L-theanine là 23,1 mg/g CK. Như vậy, hàm lượng Chlorophyll trong bột matcha là khá cao. Hàm lượng Polyphenol tổng số đạt 18,22% (theo quy định tại TCVN 9740:2013 [24], hàm lượng polyphenol tối thiểu đối với bột matcha là 8%).

Kết quả phân tích vi sinh vật cho thấy, các chỉ tiêu vi sinh vật đều đạt tiêu chuẩn an toàn thực phẩm theo quy định của Bộ Y tế [25]. Chỉ tiêu vi sinh vật: *Coliforms*, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella*: KPH; tổng số vi khuẩn hiếu khí 1,34x10² Cfu/g; tổng số bào tử nấm men, nấm mốc 18 Cfu/25 g. Như vậy, sản phẩm đạt yêu cầu về mặt an toàn thực phẩm.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát công đoạn xử lý diệt men bằng hấp hơi nước bão hoà ở 100°C, thời gian hấp 2 phút; sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 40°C, độ dày lớp chè sấy là 30 mm. Chè sau khi làm khô, được nghiền bằng cối đá với tốc độ nghiền 20 - 25 vòng/phút cho bột matcha chè Trung du xanh có

tổng tỷ lệ hạt có kích thước phù hợp với kích thước matcha đạt từ 97,9 - 98,3%. Sản phẩm có màu xanh sáng, hương vị thơm ngậy đặc trưng, kích thước hạt chè matcha nhỏ, mịn, đạt tiêu chuẩn. Sản phẩm bột matcha chè Trung du có độ ẩm 4,38%; hàm lượng chất hoà tan 43,14%CK; hàm lượng Chlorophyll 75,14 mg/g CK; L-theanine là 23,1 mg/g CK; Polyphenol tổng số đạt 18,22%CK; Catechin tổng số 13,93%CK, màu xanh sáng. Chỉ tiêu vi sinh vật: *Coliforms*, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella*: KPH; tổng số vi khuẩn hiếu khí 1,34x10² Cfu/g; tổng số bào tử nấm men, nấm mốc 18 Cfu/25 g. Sản phẩm đạt yêu cầu về mặt an toàn thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đặng Minh Nhật (2010). Nghiên cứu thu nhận chế phẩm chống oxy hóa tự nhiên từ lá chè già, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 48(6), 89 - 98.
- Ngô Văn Thu (1998). *Bài giảng dược liệu*, Trường Đại học Dược Hà Nội.
- Kuan-Li Kuo *et al.* (2021). Comparative studies on the hypolipidemic and growth

suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats. *Agric Food Chem*, 26; 53 (2): 480 - 489.

4. Lee, L. S., Kim, S. H., Kim, Y. B., Kim, Y. C (2014). Quantitative analysis of major constituents in green tea with different plucking periods and their antioxidant activity. *Molecules*, 19, 9173 - 9186.

5. Kochman J., Jakubczyk K., Antoniewicz J., Mruk H., & Janda K. (2020). Health benefits and chemical composition of matcha green tea: A review, *Molecules*, 26(1), 1 - 11.

6. Ošťádalová, M., Tremlová, B., Pokorná, J., & Král, M. (2015). Chlorophyll as an indicator of green tea quality. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10), 103 - 109.

7. Lin, X., Zhang, L., Lei, H., Zhang, H., Cheng, Y., Zhu, R., & Ruan, R. (2010). Effect of drying technologies on quality of green tea. *International Agricultural Engineering Journal*, 19(3), 30 - 37.

8. Kang Mo Ku and Choong Hwan Lee (2010). Etabolomics analysis reveals the compositional differences of shade grown tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 418 - 426.

9. Yuan JM, S. (2011). Tea and cancer prevention: epidemiological studies. *Pharmacological Research*, 64, 123 - 135.

10. Đặng Thị Thanh Quyên (2015). Nghiên cứu công nghệ sản xuất bột chè xanh dạng matcha và ứng dụng trong một số thực phẩm. Luận án Tiến sỹ Chuyên ngành Công nghệ sau thu hoạch. Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch.

11. Koide, S., & K.-i. Kimura. (2022). Japanese Green Tea: Tea as a Food Ingredient: Properties, Processing, and Health Aspects, *Functional Food and Nutraceutical series*, 82 - 102.

12. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 5613:2007. Chè - Xác định hao hụt khối lượng ở 103°C.

13. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9738:2013. Chè - Chuẩn bị mẫu nghiền và xác định hàm lượng chất khô.

14. Phân tích định lượng Polyphenol tổng số, Catechin tổng số trong lá chè Trung du búp xanh bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

15. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 13283:2021. Thực phẩm - Xác định hàm lượng chlorophyll tổng số bằng phương pháp quang phổ.

16. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 13011:2020. Chè và sản phẩm chè - Xác định hàm lượng theanin trong chè và chè hòa tan dạng rắn sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao.

17. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 5610:2007. Chè - Xác định hàm lượng chất chiết trong nước.

18. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 6846:2007 (ISO 7251:2005). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.

19. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa.

20. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8275-2:2010 (ISO 2152.7-2:2008). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95.

21. Nguyễn Văn Toàn, Nguyễn Ngọc Bình, Vũ Ngọc Tú, Trần Xuân Hoàng, Nguyễn Mạnh Hà, Đào Thanh Hằng, Vi Văn Cương, Trần Thị Thúy Hồng, Lưu Anh Dũng, Nguyễn Trung Hiếu (2023). Tiến bộ kỹ thuật Quy trình chế biến chè matcha từ 02 giống chè mới PH8 và LCT1. *Quyết định Số: 74/QĐ-CCPT-CBBQ, ngày 14/12/2023 của Cục Chất lượng, Chế biến và Phát triển thị trường - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*.

22. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9745-1:2013 (ISO 14502-1:2005). Chè - xác định các chất đặc trưng của chè xanh và chè đen - Phần 1: Hàm lượng polyphenol tổng số trong chè - Phương pháp đo màu dùng thuốc thử folin-ciocalteu.

23. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9745-2:2013 (ISO 14502-2:2005). Chè - Xác định các chất đặc trưng của chè xanh và chè đen - Phần 2: Hàm lượng catechin trong chè xanh - Phương pháp sắc lỏng hiệu năng cao.

24. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9740:2013 (ISO 11287:2011). Chè xanh - Định nghĩa và các yêu cầu cơ bản.

25. Bộ Y tế (2007). *Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT, ngày 19 tháng 12 năm 2007 về việc ban hành “Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hoá học trong thực phẩm”.*

IMPACT OF SOME TECHNOLOGICAL FACTORS IN PROCESSING ON THE QUALITY OF MATCHA TEA

Nguyen Tat Thang¹, Le Thu Hang¹, Nguyen Tien Nam¹, Vu Thi Nhi¹, Chu Le Trang²

¹*Institute of Agricultural Engineering and Post-Harvest Technology*

²*Hanoi University of pharmacy*

Abstract

The influence of some technological factors in the process of processing matcha tea powder such as yeast destruction (steaming, stir-frying, microwave), drying (tea layer thickness, drying temperature), grinding speed in the technological process of producing matcha powder from the green bud Trung du tea variety was carried out in this study. Raw materials: 1 bud + 3 leaf green Trung du tea buds were harvested in Phong Chau ward, Phu Tho province. The raw tea garden was covered to reduce the light intensity by 90% with black net for a period of 20 days. The raw materials had a total Polyphenol content of 18.62%CK; total Catechin of 14.24%CK; L-theanine of 5.76 mg/g CK. The results showed that killing yeast by steaming saturated water at 100°C, steaming time 2 minutes; drying with heat pump at 40°C, drying tea layer thickness 30 mm gave tea with the best quality, then: Chlorophyll content reached 73.84 mg/gCK; L-theanine 23.56 mg/g CK; total Polyphenol 18.32%CK; Total Catechin 12.86%CK; tea leaves were bright green, dried evenly. After being dried, the tea was ground with a stone mortar at a grinding speed of 20 - 25 rpm for green Trung du tea matcha powder with a total particle ratio of size suitable for matcha size reaching from 97.9 - 98.3%. The product has a bright green color, characteristic rich aroma, small, smooth matcha tea particle size, meeting the standards. Matcha powder product has moisture content of 4.38%, soluble matter content of 43.14%CK; Chlorophyll content of 75.14 mg/g CK; L-theanine is 23.1 mg/g CK; total Polyphenol reaches 18.22%CK; total Catechin 13.93%CK, bright green color. Microbiological indicators: *Coliforms*, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella*: KPH; total aerobic bacteria 1.34×10^2 Cf/g; total yeast and mold spores 18 Cf/25 g. The product meets food safety requirements according to regulations of the Ministry of Health.

Keywords: *Midland tea, Green bud midland tea, matcha.*

Ngày nhận bài: 10/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 25/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 15/7/2025

Ngày duyệt đăng: 6/8/2025

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CAO CHIẾT GIÀU HOẠT CHẤT ADENOSIN, CORDYCEPIN VÀ POLYSACCHARIDES TỪ NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO BẰNG THỦY PHÂN ENZYME KẾT HỢP SIÊU ÂM, QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM

Bùi Thị Hương Quỳnh¹, Hoàng Hương Ngọc¹, Bùi Thị Ánh Nguyệt²,
Hoàng Ngọc Dũng², Trần Thị Ngọc Anh², Lê Thị Trang³, Lê Thị Vân Thanh³,
Nguyễn Thị Hương Trà³, Nguyễn Thị Thu Huyền³, Vũ Thu Diễm³, Bùi Thị Hương³. *

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Công ty TNHH Công nghệ Sinh học xanh Nhật Lan

³Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

* Email: bthuong75@yahoo.com

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, công nghệ sản xuất cao chiết giàu các hoạt chất sinh học gồm: Polysaccharides, cordycepin và adenosin từ nấm Đông trùng hạ thảo đã được khảo sát và xây dựng ở quy mô phòng thí nghiệm, bằng phương pháp thủy phân của tổ hợp 2 enzyme kết hợp với sự hỗ trợ của siêu âm. Kết quả đã chỉ ra các điều kiện chiết xuất thích hợp bao gồm: Nấm được nghiền nhỏ với kích thước trung bình 1 mm, tỷ lệ nguyên liệu nấm/dung môi là 1/25. Tiến hành chiết xuất với 2 loại enzyme lần lượt là celluclast 1,5% và alcalase 0,75%, trong 105 phút ở 50°C, bao gồm cả thời gian siêu âm ở cường độ 600 W trong 20 phút cho mỗi loại enzyme. Thu hồi cao chiết bằng phương pháp cô chân không dịch chiết ở nhiệt độ cô đặc 60°C, trong 170 phút, áp suất đạt 800 mbar, đến khi hàm lượng chất khô hòa tan đạt khoảng 11,5°Brix. Tạo sản phẩm cao chiết dạng bột bằng phương pháp sấy thăng hoa dịch cô đặc. Nguyên liệu được cấp đông ở nhiệt độ -30°C trong 6 giờ, sấy thăng hoa với áp suất 30 - 60 Pa, nhiệt độ giàn ngưng -60°C. Cao khô được nghiền bột mịn, sản phẩm có dạng bột, toí, xốp, màu nâu, mùi thơm đặc trưng của nấm Đông trùng hạ thảo, có độ ẩm 4,2%, phù hợp với yêu cầu chất lượng của bột cao khô trong Dược điển Việt Nam V (< 5%); hàm lượng polysaccharides, codycepin và adenosine đạt lần lượt đạt 3.498 mg/100 g, 179 mg/100 g, 81 mg/100 g. Bột cao khô thu được là tiềm năng cho chế biến các dạng thực phẩm chức năng, bào chế viên nang thực phẩm bảo vệ sức khỏe từ nấm Đông trùng hạ thảo.

Từ khóa: Nấm Đông trùng hạ thảo, polysaccharides, cordycepin, adenosin, siêu âm, enzyme Celluclast[®] 1,5L, enzyme Alcalase[®] 2,4L FG.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Đông trùng hạ thảo là dược liệu quý được sử dụng rộng rãi trên thế giới, do chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học quý như cordycepin, adenosine và polysaccharides, có vai trò tăng cường miễn dịch, ngăn ngừa và phòng chống ung thư, giảm cholesterol, điều hòa tim mạch và tuần hoàn não, hạ huyết áp, tăng cường sinh lý, hỗ trợ điều trị vô sinh, hiếm muộn... [1].

Trên thế giới, các hoạt chất này thường được chiết bằng nước nóng, enzyme, dung môi hóa học, vi sóng hoặc sóng siêu âm.... Tuy nhiên, phương pháp dùng enzyme kết hợp siêu âm (UAEE) đã được công bố là giúp nâng cao hiệu quả và rút ngắn thời gian chiết xuất [2]. Tại Việt Nam, một số nghiên cứu chiết xuất nấm này đã được công bố gồm: (+). Sử dụng dung môi hoá học - cồn 50% để chiết xuất cordycepin và adenosin [3]; (+). Sử

dùng nước nóng là có hiệu quả hơn cho chiết xuất nấm, sau đó đến các dung môi methanol, ethanol và aceton, theo thứ tự giảm dần [4]; (+). Sử dụng enzyme thủy phân axit cho chiết xuất nấm còn lẫn trong giá thể nuôi trồng [5]; (+). Sử dụng enzyme alcalase và siêu âm cho chiết xuất đã cho chế phẩm có hàm lượng adenosin đạt cao nhất, cao hơn so với phương pháp chỉ sử dụng nước nóng, siêu âm và enzyme lần lượt là 6,8 lần, 1,6 lần và 1,3 lần [6]. Tuy nhiên, tại Việt Nam, nghiên cứu sử dụng tổ hợp các enzyme, thay vì chỉ sử dụng enzyme đơn lẻ, kết hợp với siêu âm, cho nâng cao hiệu quả chiết xuất đồng thời 3 loại hoạt chất quý từ nấm này gồm: Cordycepin, adenosin và polysaccharides, tiếp theo là công nghệ thu hồi tạo chế phẩm bột cao khô cũng chưa được công bố.

Nghiên cứu này sẽ khảo sát sử dụng tổ hợp 2 enzyme kết hợp với siêu âm cho nâng cao hiệu quả chiết xuất 3 loại hoạt chất cordycepin, adenosin và polysaccharides, thu hồi và tạo chế phẩm bột cao khô ở quy mô phòng thí nghiệm. Hướng nghiên cứu này sẽ góp phần ứng dụng enzyme sinh học thân thiện với môi trường cho nâng cao hiệu quả chế biến tinh, chế biến sâu thực phẩm chức năng có giá trị gia tăng cao từ nấm Đông trùng hạ thảo, góp phần hỗ trợ phòng chống bệnh tật và nâng cao sức khỏe cộng đồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đông trùng hạ thảo quả thể nuôi trồng tại Việt Nam, có màu vàng sáng đặc trưng, độ ẩm $\leq 13\%$; hàm lượng cordycepin ≥ 70 mg/100 g; adenosine ≥ 30 mg/100 g; polysaccharides $\geq 1,3$ g/100 g và đạt chỉ tiêu an toàn vệ sinh thực phẩm [7, 8].

2.2. Hóa chất

Chế phẩm enzyme Celluclast® 1,5L có hoạt tính cellulases, enzyme Alcalase® 2,4 L FG có hoạt tính protease (cả 2 enzyme đều thuộc hãng Novozymes, Đan Mạch). Cordycepin chuẩn, adenosine chuẩn: Sigma, Mỹ. Các hoá chất khác đạt mức độ phân tích.

2.3. Thiết bị

Hệ thống HPLC - Waters Alliance e2695 với detector PDA bước sóng 260, cột phân tích

Xbridge C18 (250 x 4,6 mm, 5 cm). Thiết bị cô đặc chân không (DLAB - Mỹ). Máy sấy thăng hoa. Các thiết bị phục vụ nuôi cấy và phân tích mẫu trong phòng thí nghiệm. Hệ thống thiết bị siêu âm UTS-SB. Khúc xạ kế cầm tay PAL-1. Máy đo quang phổ (UV-VIS, Trung Quốc) ...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nghiên cứu lựa chọn pH, nhiệt độ và thời gian thích hợp của enzyme cho chiết xuất cordycepin, adenosin và polysaccharides từ nấm Đông trùng hạ thảo

- *Lựa chọn pH*: Lấy 2,5 g bột Đông trùng hạ thảo (kích thước trung bình 1 mm) cho vào từng bình đáy tròn riêng biệt, đã có 62,5 ml dung dịch đệm phosphat citrat có pH lần lượt là 5, 6, 7, 8. Bổ sung vào từng bình 1,5% enzyme celluclast, chiết ở 50°C trong 120 phút, bất hoạt enzyme ở 80°C trong 2 phút, tiếp tục chiết với enzyme alcalase 0,75% như đã tiến hành với celluclast. Lọc qua giấy lọc, dịch lọc được cô quay chân không và sấy tới khối lượng không đổi ở 40°C. Cao khô sau đó được hoà vào 10 ml nước cho định lượng cordycepin, adenosin và polysaccharides. Thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được tính trung bình.

- *Lựa chọn nhiệt độ*: Tiến hành chuẩn bị mẫu thí nghiệm cho tiến hành chiết xuất với 2 loại enzyme đã nêu ở trên ở các mức nhiệt độ chiết xuất 40°C, 45°C, 50°C, 55°C và 60°C.

- *Lựa chọn thời gian chiết xuất*: Tiến hành chuẩn bị mẫu thí nghiệm cho chiết xuất với 2 loại enzyme nêu trên ở các mức nhiệt độ và pH đã chọn được ở thí nghiệm trước đó, tiến hành chiết xuất ở các khoảng thời gian 60, 90, 105, 120, 135 và 150 phút.

2.4.2. Nghiên cứu lựa chọn cường độ và thời gian siêu âm cho chiết xuất cordycepin, adenosin và polysaccharides từ nấm Đông trùng hạ thảo bằng phương pháp enzyme kết hợp siêu âm

- *Lựa chọn cường độ siêu âm*: Chuẩn bị mẫu như ở thí nghiệm 2.4.1, bổ sung 1,5% celluclast sau đó tiến hành siêu âm ở các mức cường độ khác nhau 360 W, 480 W, 600 W, 720 W, 840 W và 960 W trong 15 phút rồi chiết tiếp ở 50°C trong 90 phút, bất hoạt enzyme ở 80°C trong 2 phút. Tiếp tục bổ sung 0,75% alcalase và tiến hành chiết xuất

tương tự như với celluclast. Tiến hành thu dịch lọc và định lượng các hoạt chất như đã mô tả ở mục 2.4.1.

- *Lựa chọn thời gian siêu âm*: Chuẩn bị mẫu thí nghiệm tương tự như đã nêu trên, tiến hành siêu âm ở cường độ thích hợp nhất đã lựa chọn được trước đó, cho khảo sát các khoảng thời gian khác nhau 10, 15, 20, 25 và 30 phút, rồi chiết tiếp ở 50°C trong 95, 90, 85, 80 và 75 phút, theo thứ tự, sao cho tổng thời gian chiết xuất cho mỗi enzyme vẫn là 105 phút.

2.4.3. Nghiên cứu tạo sản phẩm cao chiết dạng bột

Lựa chọn phương pháp sấy dịch cô đặc dựa trên hiệu quả tạo cao khô chứa hàm lượng polysaccharides, cordycepin, adenosin sau khi sấy.

- Sấy thăng hoa: Dịch cô đặc được đông lạnh ở -30°C trong 6 giờ. Sấy thăng hoa ở áp suất chân không 30 - 60 Pa, nhiệt độ giàn ngưng -60°C, quá trình sấy kết thúc khi độ ẩm < 5%.

- Sấy khô: Dịch cô đặc được sấy ở 40°C hoặc 50°C đến độ ẩm sản phẩm < 5%.

2.5. Phương pháp phân tích

2.5.1. Xác định hàm lượng polysaccharides trong mẫu dịch chiết.

Dịch chiết được cô đặc về 1/5 thể tích, sấy ở 40°C đến khối lượng không đổi cho thu cao thô.

Cao thô chứa polysaccharides được làm sạch bằng dung dịch Savage (n-butanol/chloroform, 1: 4, v/v) theo phương pháp Staub (1965) [9]. Hàm lượng polysaccharides được xác định gián tiếp thông qua hàm lượng glucose bằng phương pháp phenol-axit sulfuric [10]. Hút 1 ml dịch mẫu cho phản ứng với 1 ml phenol 5% và 5 ml axit sulfuric đặc, để ổn định 10 phút rồi đo độ hấp thụ tại bước sóng 488 nm. Hàm lượng polysaccharides được tính toán dựa trên độ hấp phụ màu của mẫu và đường chuẩn glucose và được tính theo công thức:

$$Y = \frac{C \times V \times n \times 10^{-3} \times 100}{m}$$

Trong đó: Y là hàm lượng polysaccharides (mg/100 g), C là nồng độ polysaccharides thu được từ phương trình hồi quy đã hiệu chuẩn

(µg/ml), V là thể tích dịch (ml), n là hệ số pha loãng, m là khối lượng mẫu (g). 10⁻³ là hệ số quy đổi µg thành mg. 100 là hệ số quy đổi (g mẫu nắm → 100 g). Hàm lượng polysaccharides sau đó được quy đổi về mg/100 g.

2.5.2. Xác định hàm lượng cordycepin và adenosine.

2.5.2.1. Định tính và bán định lượng cordycepin và adenosin bằng sắc ký bản mỏng (TLC)

Tiến hành theo phương pháp của Ma và cs (2004) [11].

Bản mỏng Silica gel 60 Fs4 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) được xử lý với hỗn hợp Na₂HPO₄ 0,05 mol/L và carboxymethyl cellulose 0,05% (tỉ lệ 4: 1, v/v), sau đó sấy ở 60°C trong 8 phút. Hệ dung môi để chạy sắc ký là chloroform: ethylacetate: isopropanol: nước (8: 2: 6: 0,6 v/v). Chấm 2 - 3 µl dung dịch chuẩn và mẫu lên bản mỏng, sau đó tiến hành chạy sắc ký đến khi dung môi lên cao 18 cm. Bản mỏng được làm khô và quan sát dưới đèn UV bước sóng 254 nm (Camag).

2.5.2.2. Định lượng cordycepin và adenosin

Xác định cordycepin bằng sắc ký lỏng cao áp (HPLC) [12].

- Chuẩn bị dung dịch chuẩn cordycepin (Sigma, USA) với nồng độ 4, 8, 12, 16 và 20 µg/ml để xây dựng đường chuẩn. Mẫu cao khô sau chiết xuất được hòa tan đều trong 10 ml methanol, lọc qua màng lọc 0,45 µm, thu dịch nổi cho phân tích. Điều kiện chạy HPLC: Thể tích tiêm mẫu là 20 µl, tốc độ dòng 0,8 ml/phút. Cột đảo pha (XDB-C185 µm, 150 mm × 4,6 mm, Agilent, USA) được sử dụng cùng với cột Phenomenex C8 (5 µm, 4 mm × 3 mm), nhiệt độ cột 28°C. Hệ dung môi được tạo thành gồm 2 kênh: Kênh A là H₂O (dung môi A) và kênh B là acetonitrile (dung môi B). Pha động chứa 0,1% axit acetic. Chương trình chạy sắc ký được cài đặt dựa trên tính chất rửa giải gradient với tỷ lệ v/v của dung dịch B: 0 - 2,5 phút, 2 - 2%; 2,5 - 12,5 phút, 2 - 12%; 12,5 - 14 phút, 12 - 96%. Detector ở bước sóng 260 nm. Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và

hàm lượng của các chuẩn, tính được hàm lượng của cordycepin (hay adenosin) theo công thức:

$$H \text{ (mg/100 g)} = Cc \times Sm \times V1 \times 100 / Sc \times m \times 1.000$$

Trong đó: Cc là nồng độ chuẩn cordycepin (hay adenosin), Sm là diện tích pic của mẫu, Sc là diện tích pic của chuẩn adenosin, V1 là thể tích sau hòa mẫu lúc cuối (10 ml), m là khối lượng cân của mẫu (g).

Xác định adenosine bằng sắc ký lỏng cao áp (HPLC) [6].

- Chuẩn bị dung dịch chuẩn adenosin (Sigma, USA) với nồng độ 5, 10, 20, 40, 80 và 100 µg/ml để xây dựng đường chuẩn. Mẫu cao khô được chuẩn bị như trên cho phân tích. Điều kiện chạy HPLC: Thể tích tiêm 20 µl; tốc độ dòng chảy là 1 ml/phút, cột đảo pha XRs C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm), nhiệt độ cột duy trì ở nhiệt độ phòng 28°C, pha động gồm 2 kênh: Kênh A là H₂O, kênh B là methanol. Chương trình được cài đặt dựa trên tính chất rửa giải gradient với tỉ lệ (v/v) của dung môi B: 0 - 30 phút, 10 - 40%, 30 - 40 phút: 10%, detector ở bước sóng 260 nm. Tiến hành tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử, sau đó tính toán hàm lượng adenosin như cách làm với cordycepin theo công thức đã nêu ở trên.

2.5.3. Xác định độ ẩm

Theo phương pháp sấy đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ xác định.

2.5.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và phần mềm SPSS 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

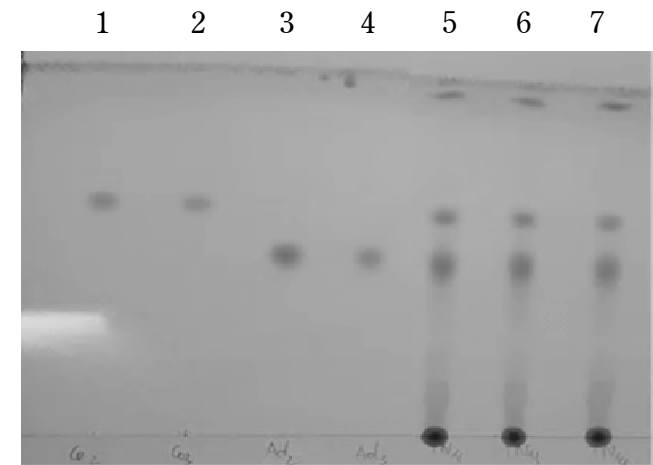
3.1. Kết quả khảo sát, lựa chọn các thông số về kích thước nguyên liệu, loại enzyme và tỷ lệ dung môi thích hợp cho chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo

Ở quy mô phòng thí nghiệm, bước đầu đã tiến hành nghiên cứu khảo sát và lựa chọn được một số thông số thích hợp cho chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo bao gồm: Kích thước nguyên liệu nấm trung bình 1 mm. Tỷ lệ nấm/dung môi (nước) là 1/25. Đã lựa chọn được 2 enzyme celluclast và alcalase, trong đó chiết xuất nấm lần lượt với

enzyme celluclast 1,5% trong 120 phút ở 50°C, bất hoạt enzyme ở 80°C trong 2 phút, sau đó tiếp tục chiết xuất với enzyme alcalase 0,75% trong 120 phút ở 50°C, bất hoạt enzyme ở 80°C trong 2 phút. Kết quả đã thu được hàm lượng các hoạt chất cordycepin, adenosin và polysaccharides đạt cao nhất, lần lượt theo thứ tự là 79 mg/100 g, 34 mg/100 g và 2.063 mg/100 g. Kết quả này có thể là do đầu tiên enzyme celluclast có hoạt tính protease giúp phá vỡ thành tế bào của nấm, tạo điều kiện tốt cho enzyme alcalase có hoạt tính protease tiếp tục thủy phân protein để giải phóng các hoạt chất sinh học một cách hiệu quả hơn. Kết quả thu được cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Vương và cs (2020) [6] đã chỉ ra enzyme alcalase là thích hợp cho chiết xuất adenosin từ nấm Đông trùng hạ thảo.

Kết quả định tính và định lượng cordycepin và adenosin từ mẫu chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo bằng 2 enzyme celluclast 1,5% và alcalase 0,75% nêu trên, đã được chỉ ra ở hình 1 và 2.

Kết quả định tính cordycepin và adenosin bằng phương pháp chạy TLC.



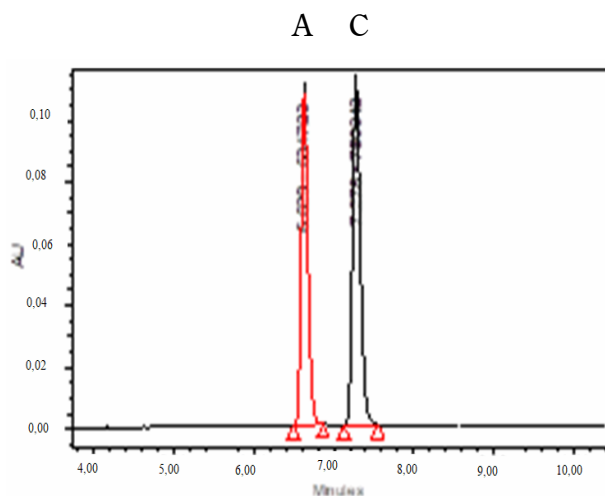
Hình 1. Kết quả chạy sắc ký bản mỏng (TLC)

Chú thích: Đường chạy cordycepin chuẩn số 1 (3 µl) và 2 (2 µl); đường chạy adenosin chuẩn số 3 (3 µl) và 4 (2 µl); đường chạy số 5, 6, 7 là 3 µl, 2,5 µl và 2 µl dịch của mẫu chiết nấm. Kết quả chạy TLC ở hình 1 cho thấy, mẫu chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo thu được đã xuất hiện vết chạy cordycepin và adenosine có giá trị R_F tương đương với mẫu chuẩn, đồng thời không ghi nhận vết của các hợp chất khác trên bản mỏng sắc ký.

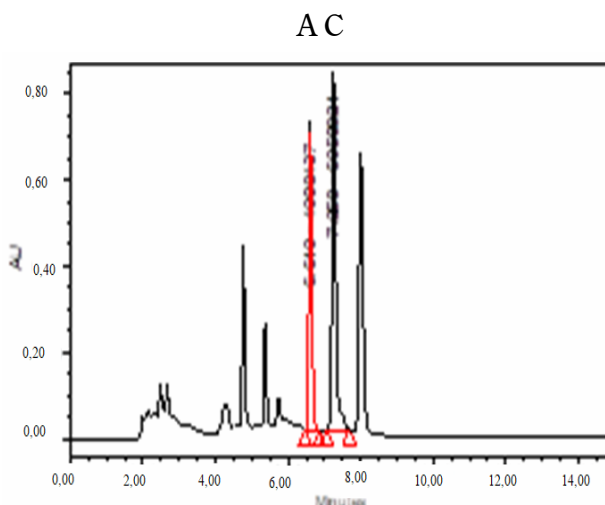
Kết quả xác định phổ chạy HPLC và thời gian lưu của cordycepin và adenosine.

Sau khi định tính cordycepin và adenosine bằng TLC, hàm lượng 2 hoạt chất này tiếp tục

được định lượng bằng phương pháp HPLC, kết quả chỉ ra thời gian lưu của 2 mẫu cordycepin và adenosin đã được trình bày ở hình 2.



Hình 2.1. Phổ chạy HPLC của mẫu chuẩn adenosin (A) và cordycepin (C)



Hình 2.2. Phổ chạy HPLC mẫu chiết nấm bằng enzyme của adenosin (A) và cordycepin (C)

Hình 2. Sắc ký đồ HPLC cho phân tích cordycepin và adenosin

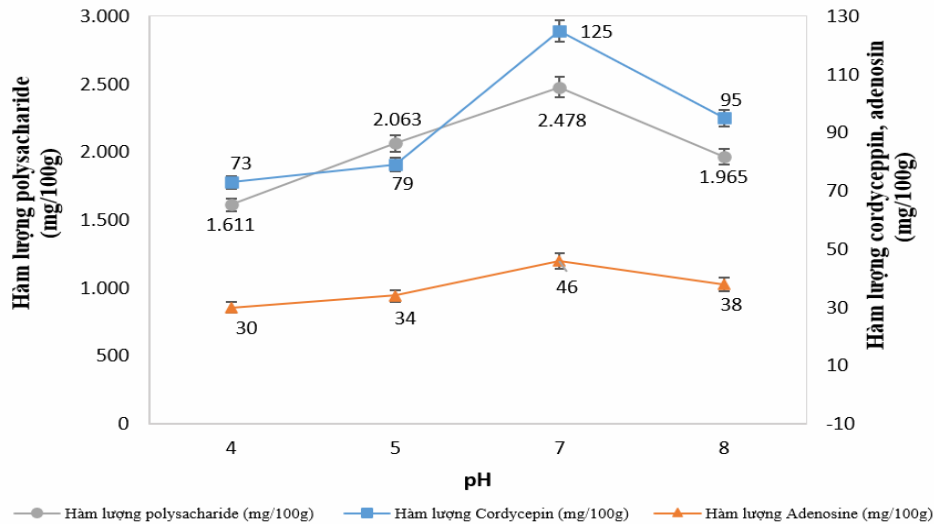
Phân tích HPLC của mẫu chuẩn (Hình 2.1) và mẫu chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo bằng enzyme (Hình 2.2) đã chỉ ra thời gian lưu của adenosine là từ 6 - 7 phút và cordycepin từ 7 - 8 phút. Tiếp theo sau đó, hàm lượng cordycepin và adenosin đã được tính toán dựa trên công thức đã trình bày ở phần phương pháp nghiên cứu, để cho ra kết quả định lượng chính xác các hoạt chất này. Hàm lượng polysaccharides trong mẫu chiết xuất nấm đã được xác định bằng phương pháp so màu ở bước sóng 488 nm và tính toán dựa trên công thức ở phần phương pháp nghiên cứu. Từ kết quả định lượng 3 hoạt chất trên trong các mẫu chiết xuất nấm, đã khảo sát, chọn ra được mẫu chiết nấm có hiệu quả chiết xuất cao nhất.

Sau khi đã lựa chọn được thông số thích hợp bước đầu gồm: Kích thước nguyên liệu 1 mm, chiết xuất nấm lần lượt bằng enzyme celluclast 1,5% và alcalase 0,75% trong 120 phút, đã cho hiệu quả chiết xuất cordycepin, adenosin và polysaccharides đạt cao nhất. Nghiên cứu tiếp tục khảo sát một số điều kiện tiếp theo cho nâng cao hiệu quả chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo.

3.2. Nghiên cứu lựa chọn một số điều kiện thích hợp cho chiết xuất cordycepin, adenosin và polysaccharides từ nấm Đông trùng hạ thảo

Để xác định điều kiện pH thích hợp cho chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo, các thí nghiệm được tiến hành khảo sát trong khoảng pH từ 5 - 8. Kết quả được trình bày trong hình 3.

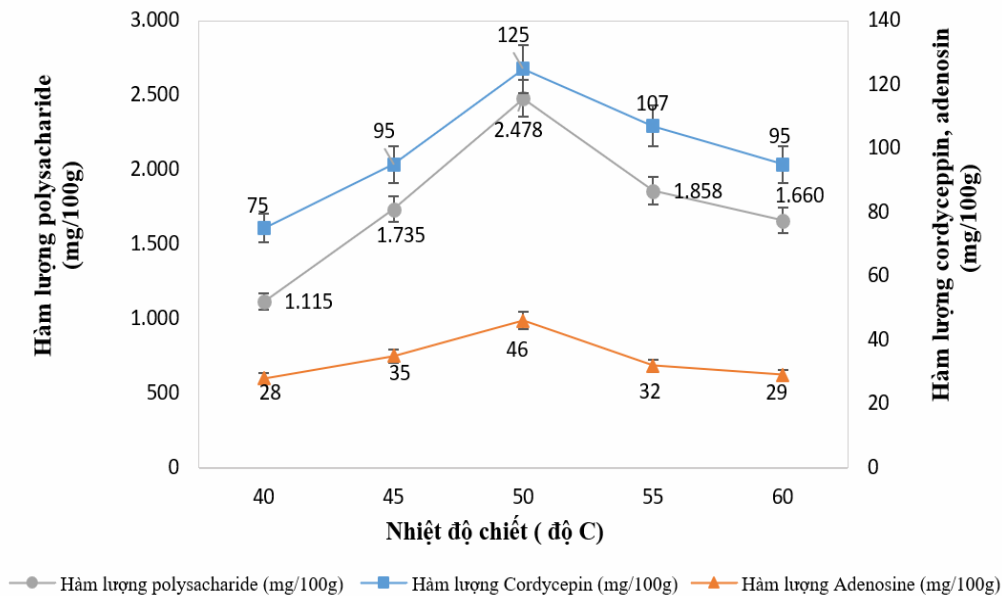
Hình 3 cho thấy, hàm lượng polysaccharides, cordycepin và adenosine trong dịch chiết tăng dần khi pH tăng từ 5 - 7. Tại mức pH7 đã cho hàm lượng 3 hoạt chất polysaccharides, cordycepin và adenosine đạt cao nhất lần lượt là 2.478 mg/100 g, 125 mg/100 g và 46 mg/100 g, theo thứ tự. Khi pH tăng lên 8, hiệu quả chiết xuất của cả ba hoạt chất đều giảm, kết quả này có thể là do pH kiềm làm biến tính, ảnh hưởng đến cấu trúc và làm giảm hoạt tính của enzyme trong môi trường kiềm. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs (2017) [13] trong đó pH 7 được xác định là phù hợp nhất cho quá trình chiết xuất cordycepin và adenosine khi sử dụng hỗn hợp enzyme celluclast và alcalase. Do đó, dung dịch đệm pH7 đã được lựa chọn cho khảo sát chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo ở các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của pH đến hiệu quả chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo

Ngoài pH, nhiệt độ cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả chiết xuất. Hoạt tính enzyme phụ thuộc đáng kể vào nhiệt độ: Nhiệt độ thấp làm giảm hiệu quả xúc tác, trong khi nhiệt độ cao có thể gây biến tính enzyme. Nghiên

cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả chiết xuất polysaccharides, cordycepin và adenosine từ nấm Đông trùng hạ thảo đã được khảo sát trong khoảng 40 - 60°C, kết quả được chỉ ra ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo

Hình 4 cho thấy, hiệu quả chiết xuất tăng dần khi nhiệt độ tăng từ 40 - 50°C. Tại 50°C, hàm lượng polysaccharides, cordycepin và adenosine đạt mức cao nhất lần lượt là 2.478 mg/100 g, 125 mg/100 g và 46 mg/100 g. Khi nhiệt độ tăng lên 55°C và 60°C, hàm lượng các hoạt chất đã giảm đi. Nguyên nhân có thể do 50°C là nhiệt độ tối ưu cho hoạt tính enzyme celluclast (phân giải thành tế bào) và alcalase (thủy phân protein), giúp giải phóng các

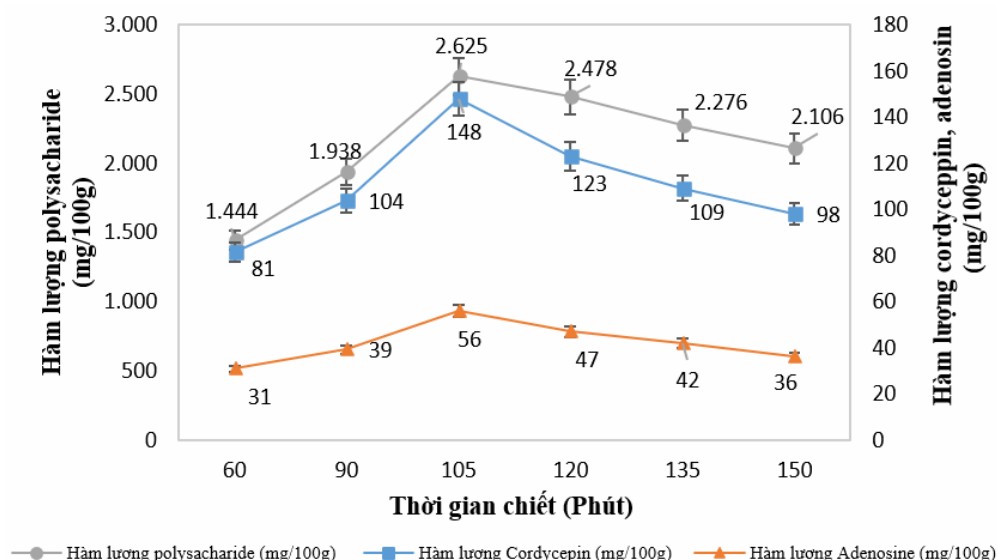
hoạt chất hiệu quả. Trong khi đó, nhiệt độ cao hơn có thể làm biến tính enzyme, từ đó làm giảm hiệu quả và hoạt tính xúc tác và giải phóng hoạt chất. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với các nghiên cứu đã công bố trước đó, nhiệt độ phù hợp cho hoạt động của enzyme nói chung và cho chiết xuất adenosin từ nấm Đông trùng hạ thảo là 50°C [6, 14]. Do đó nhiệt độ chiết xuất 50°C là phù hợp và được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo cho

chiết xuất Đông trùng hạ thảo bằng phương pháp sử dụng enzyme celluclast và protease.

Bên cạnh pH và nhiệt độ, thời gian chiết cũng đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa hiệu quả chiết enzyme. Nghiên cứu khảo sát thời gian chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo được tiến hành và chỉ ra kết quả ở hình 5.

Hình 5 cho thấy, thời gian chiết xuất nấm bằng enzyme cho hàm lượng các hoạt chất polysaccharides, cordycepin và adenosine tăng lên khi thời gian chiết xuất tăng dần lên từ 60 - 105 phút. Tại thời điểm chiết xuất 105 phút đã cho hiệu quả chiết xuất đạt cao nhất, cho hàm lượng các hoạt chất polysaccharides, cordycepin và adenosine đạt lần lượt là 2.625 mg/100 g, 148

mg/100 g và 56 mg/100 g, theo thứ tự. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian chiết đến 120 phút trở đi, đã cho hiệu quả chiết xuất bắt đầu giảm dần. Tại thời điểm 150 phút, hàm lượng các hoạt chất polysaccharides, cordycepin và adenosine tiếp tục giảm, chỉ còn 2.106 mg/100 g, 98 mg/100 g, và 36 mg/100 g, theo thứ tự, giảm xuống còn 80%, 66%, 64% theo thứ tự, so với thời điểm enzyme hoạt động cho hiệu quả chiết xuất cao nhất ở thời điểm 105 phút. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Yin và cs (2011) [15] đã chỉ ra thời gian chiết phù hợp cho chiết xuất polysaccharides từ các loại nấm thường nằm trong khoảng 1,4 - 3 giờ.



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo

Ở thời điểm chiết ngắn dưới 90 phút chưa đủ để enzyme phá vỡ hoàn toàn cấu trúc tế bào và hiệu quả giải phóng các hợp chất là chưa cao. Tuy nhiên, khi thời gian chiết kéo dài sẽ làm thúc đẩy quá trình oxy hóa, phân hủy dần các hoạt chất polysaccharides, cordycepin và adenosin trong dịch chiết, dẫn đến làm giảm hàm lượng các hoạt chất ở thời điểm chiết 120 phút và tiếp tục giảm ở thời điểm 150 phút. Như vậy, thời gian chiết 105 phút được xác định là thích hợp nhất cho hoạt động enzyme, mang lại hiệu quả chiết xuất cao cho 3 loại hoạt chất và được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Sau thời điểm này, cần tiến hành bất hoạt enzyme bằng cách gia nhiệt ở 80°C trong 2 phút để ngăn

chặn quá trình oxy hóa và phân hủy hoạt chất, giúp ổn định chất lượng dịch chiết. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Vương và cs (2020) [6] là sau 120 phút khi chiết nấm Đông trùng hạ thảo với alcalase, hàm lượng adenosin bắt đầu giảm.

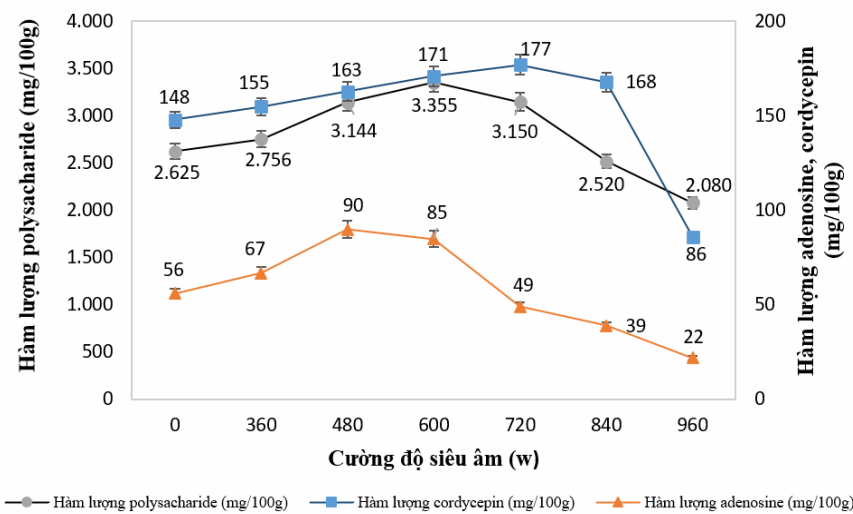
3.3. Nghiên cứu lựa chọn cường độ và thời gian siêu âm cho chiết xuất cordycepin, adenosin và polysaccharides từ nấm Đông trùng hạ thảo

Từ các kết quả đã trình bày ở mục trước, đã lựa chọn được điều kiện thích hợp cho chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo với enzyme, trong đệm phosphat citrat pH7, bổ sung lần lượt 2 loại enzyme celluclast 1,5% và alcalase 0,75%, tỷ lệ nấm/dung môi là 1/25.

Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát khi sử dụng phương pháp chiết xuất bằng enzyme có sự hỗ trợ của sóng siêu âm ở cường độ 480 W ở 50°C cho cả 2 loại enzyme (mỗi enzyme là 15 phút), kết quả đã làm tăng đáng kể hiệu quả của quá trình chiết xuất, đã cho hàm lượng polysaccharides tăng gấp 2 lần và 1,2 lần; cordycepin tăng 1,8 lần và 1,15 lần; adenosin tăng 2,5 lần và 1,6 lần, khi so sánh với phương pháp chiết đơn lẻ chỉ dùng siêu âm và chỉ dùng enzyme, theo thứ tự. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với các nghiên cứu đã công bố rằng siêu âm khi kết hợp với enzyme đã hỗ trợ, làm tăng đáng kể hiệu quả chiết xuất của các hợp chất

sinh học đơn lẻ của nấm bao gồm polysaccharides [16], cordycepin [17] và adenosin [6].

Trong công nghệ chiết xuất cao chiết giàu các hoạt chất sinh học bằng phương pháp enzyme kết hợp siêu âm, hiệu quả chiết xuất phụ thuộc vào các thông số như nồng độ enzyme, cường độ và thời gian siêu âm [18]. Để tìm được cường độ siêu âm thích hợp cho nâng cao hiệu quả chiết xuất nấm với 2 loại enzyme nói trên, đã tiến hành siêu âm mẫu ở các cường độ 360 W, 480 W, 600 W và 720 W, với thời gian siêu âm cố định cho 2 enzyme là 30 phút (mỗi enzyme là 15 phút) ở 50°C. Kết quả được trình bày trong hình 6.



Hình 6. Ảnh hưởng của cường độ siêu âm đến hiệu quả hỗ trợ enzyme cho chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo

Hình 6 cho thấy, hiệu quả chiết xuất của enzyme tăng rõ rệt khi cường độ siêu âm tăng từ 360 W đến 720 W. Hàm lượng adenosine, polysaccharides và cordycepin đạt cao nhất lần lượt tại 480 W, 600 W, 720 W, theo thứ tự. Cụ thể, adenosine tăng dần lên từ 67 mg/100 g (360 W), đạt giá trị cao nhất là 90 mg/100 g (480 W), sau đó bắt đầu giảm dần còn 85 mg/100 g (600 W) và chỉ còn 22 mg/100 g (960 W). Hàm lượng polysaccharides cũng tăng khi cường độ siêu âm tăng, từ 2.756 mg/100 g (360 W) tăng lên đạt cao nhất là 3.355 mg/100 g (600 W), sau đó giảm dần còn 2.080 mg/100 g tại 960 W. Cordycepin tăng lên từ 155 mg/100 g (360 W), đạt cao nhất là 177 mg/100 g (720 W), sau đó giảm mạnh còn 86 mg/100 g (960 W). Các kết quả này có thể giải thích rằng: Khi cường độ siêu âm tăng lên, làm gia

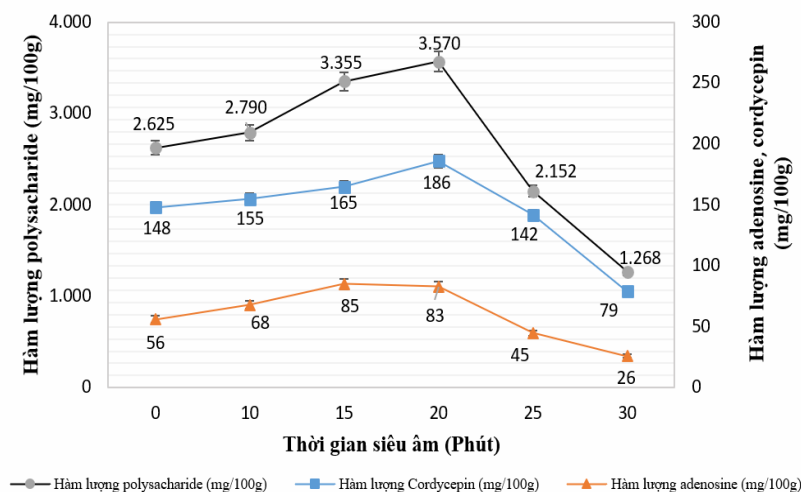
tăng hiện tượng tạo và vỡ bọt khí, tạo lực cắt lớn, làm tăng tốc độ truyền khối của chất chiết, tạo lên sự khuấy trộn mạnh, gây ra sự phá huỷ thành tế bào, hỗ trợ khuếch tán các hoạt chất vào dung môi, đồng thời làm tăng hoạt tính enzyme. Tuy nhiên, nếu cường độ siêu âm quá cao, có thể gây phá vỡ tế bào, thay đổi cấu trúc và phá huỷ 1 phần hợp chất có hoạt tính sinh học (kể cả enzyme, polysaccharides, cordycepin và adenosin), dẫn đến giảm hiệu quả chiết xuất, hàm lượng các hoạt chất sau khi chiết xuất cũng bị giảm đi. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Vương và cs (2020, 2021) [6, 17], với cường độ siêu âm tối ưu cho chiết xuất cordycepin và adenosine riêng lẻ lần lượt là 840 W và 480 W, theo thứ tự. Tuy nhiên, với mục tiêu chiết xuất đồng thời cả ba hợp chất polysaccharides, cordycepin và adenosin, nhận

thấy ở cường độ 600 W được xác định là phù hợp nhất, cho hàm lượng polysaccharides đạt cao nhất là 3.355 mg/100 g, cordycepin đạt là 165 mg/100 g và adenosine là 85 mg/100 g, chỉ giảm nhẹ so với giá trị cao nhất của chúng. Do đó, công suất 600 W được lựa chọn cho chiết xuất 3 loại hoạt chất này cho các nghiên cứu tiếp theo.

Trong công nghệ chiết xuất nấm, bên cạnh cường độ siêu âm thì thời gian siêu âm cũng là một yếu tố ảnh hưởng lớn đến hiệu quả chiết các chất có hoạt tính sinh học. Tiến hành khảo sát thời gian siêu âm đến quá trình chiết nấm bởi 2 enzyme, với cường độ siêu âm cố định ở 600 W. Kết quả được thể hiện ở hình 7.

Kết quả khảo sát ở hình 7 cho thấy, thời gian siêu âm ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo. Khi tăng thời gian siêu âm từ 10 - 20 phút đã làm tăng hiệu quả chiết xuất của enzyme lên đáng kể, tại thời điểm siêu âm 20 phút đã cho hàm lượng polysaccharides và cordycepin đạt giá trị cao nhất 3.570 mg/100 g và 186 mg/100 g, theo thứ tự, riêng adenosin thì không có sự thay đổi đáng kể so với mức cao nhất là 85 mg/100 g, đạt ở mức 83 mg/100 g. Hiệu quả

chiết xuất của enzyme bắt đầu giảm mạnh sau thời gian siêu âm từ 25 - 30 phút, tại 2 thời điểm này, hàm lượng các hoạt chất giảm mạnh theo thứ tự, với polysaccharides giảm còn là 2.152 mg/100 g và 1.268 mg/100 g, cordycepin giảm còn 142 mg/100 g và 79 mg/100 g và adenosine giảm còn 45 mg/100 g và 26 mg/100 g, lần lượt theo thứ tự. Nguyên nhân được giải thích rằng siêu âm kéo dài, một phần cấu trúc polysaccharides có thể bị phân huỷ và tạo thành gốc đường tự do, ngoài ra còn làm tăng lượng các hợp chất cao phân tử được giải phóng ra, từ đó có thể gây tắc nghẽn các kênh dẫn dịch chiết trong khối nguyên liệu. Ngoài ra, thời gian siêu âm dài còn liên quan đến sự thay đổi cấu trúc và phân huỷ các hợp chất mong muốn (kể cả enzyme, polysaccharides, cordycepin hay adenosin), dẫn đến làm giảm mạnh hoạt tính của enzyme và hàm lượng các hoạt chất sinh học thu được sau khi chiết xuất. Vì vậy, thời gian siêu âm thích hợp nhất là 20 phút cho mỗi enzyme, được xác định là phù hợp và lựa chọn cho chiết xuất dịch chiết giàu polysaccharides, cordycepin và adenosin từ nấm Đông trùng hạ thảo ở các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 7. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hiệu quả hỗ trợ enzyme cho chiết xuất nấm Đông trùng hạ thảo

3.4. Nghiên cứu thu hồi cao chiết giàu hoạt chất sinh học polysaccharides, cordycepin và adenosin từ dịch chiết

Dịch chiết nấm Đông trùng hạ thảo sau khi lọc, có hàm lượng chất khô hoà tan tổng số đạt 1,4°Brix, polysaccharides đạt 3.570 mg/100 g, cordycepin là 186 mg/100 g, adenosin là 83

mg/100 g. Tiến hành cô đặc mỗi mẫu có thể tích là 180 ml dịch lọc (thu được tương ứng từ dịch chiết xuất của 10 g bột nấm/250 ml dung môi) trên máy cô quay chân không ở các nhiệt độ từ 50 - 70°C, vận tốc vòng quay 120 phút, áp suất đạt 800 mbar. Trong thời gian cô đặc, tiến hành theo dõi hàm lượng chất khô hoà tan tổng số trong dịch cô

đặc và trạng thái sản phẩm, hàm lượng hoạt chất thu được từ các mẫu thí nghiệm. Kết quả đã chỉ ra ở nhiệt độ cô đặc 60°C và thời gian cô đặc là 170 phút, thu được 18 ml dịch cô đặc có hàm lượng chất khô hoà tan đạt 11,6°Brix, đã cho hiệu suất thu hồi các hoạt chất đạt là cao nhất gồm: Polysaccharides, cordycepin và adenosin đạt lần lượt là: 94,2%, 91% và 92%. Dịch cô đặc có màu nâu vàng, mùi thơm đặc trưng của nấm Đông trùng hạ thảo. Khi kéo dài thời gian cô đặc lên 180 phút, hàm lượng chất khô hoà tan đạt 13,3°Brix nhưng cho dịch cô đặc có màu sẫm và bắt đầu có mùi hơi khét, kết quả này cho thấy sự phân hủy hoạt chất có thể đã bắt đầu diễn ra. Do vậy, điều kiện cô đặc thích hợp được xác định là 60°C trong 170 phút, áp

suất đạt 800 mbar, sẽ được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

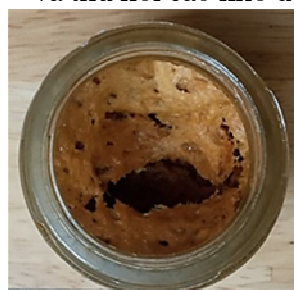
Dịch cô đặc sau đó đã được tiến hành khảo sát và sấy khô theo 3 phương pháp gồm sấy thăng hoa, sấy khô ở 50°C và sấy ở nhiệt độ thấp 40°C đến khối lượng không đổi, nghiền bột mịn. Kết quả phân tích đã chỉ ra sấy thăng hoa đã cho hiệu quả thu hồi cao khô các hoạt chất đạt là cao nhất, gồm polysaccharides, cordycepin và adenosin đạt lần lượt theo thứ tự là: 3.489 mg/100 g, 179 mg/100 g và 81 mg/100 g. Sản phẩm cao khô thu được có màu vàng nâu, thơm, kết cấu xốp, dễ nghiền mịn, phù hợp cho bào chế dạng viên nang. Hình ảnh sản phẩm mẫu trong quá trình chiết xuất và thu hồi cao khô được chỉ ra ở hình 8.



Mẫu dịch chiết
(trước khi cô đặc)



Mẫu dịch chiết
(sau khi cô đặc)



Mẫu cao chiết sau khi
sấy thăng hoa



Mẫu cao chiết sau khi
sấy và nghiền bột mịn

Hình 8. Kết quả chiết xuất, thu hồi và tạo mẫu cao chiết khô từ nấm Đông trùng hạ thảo (quy mô phòng thí nghiệm)

3.5. Đánh giá chất lượng cao chiết khô nấm đông trùng hạ thảo

Chế phẩm bột cao chiết nấm Đông trùng hạ thảo đã được phân tích kết quả cho thấy: Sản phẩm có độ ẩm 4,2 %, phù hợp với yêu cầu chất lượng của bột cao khô trong Dược điển Việt Nam V (2017) [7]; hàm lượng polysaccharides đạt 3.489 mg/100 g, cordycepin đạt 179 mg/100 g và adenosine đạt 81 mg/100 g. Sản phẩm dạng bột khô, tơi, màu nâu, mùi thơm đặc trưng của nấm đông trùng hạ thảo.

4. KẾT LUẬN

Đã lựa chọn được các yếu tố công nghệ thích hợp cho sản xuất cao chiết giàu cordycepin, adenosin và polysaccharides từ nấm Đông trùng hạ thảo ở quy mô phòng thí nghiệm là như sau:

- Kích thước nguyên liệu 1 mm, tỷ lệ nấm/dung dịch đệm phosphat citrat pH7 là 1/25.

Chiết xuất lần lượt với 2 enzyme celluclast 1,5% và alcalase 0,75% trong 105 phút ở nhiệt độ 50°C, bao gồm cả thời gian kết hợp siêu âm ở cường độ 600 W trong 20 phút cho mỗi loại enzyme.

- Thu hồi cao chiết giàu polysaccharides, cordycepin và adenosine bằng phương pháp cô chân không dịch chiết đến hàm lượng chất khô tự nhiên đạt 11,5°Brix, nhiệt độ cô đặc 60°C, thời gian cô đặc 170 phút. Tạo sản phẩm cao chiết dạng bột từ nấm Đông trùng hạ thảo bằng phương pháp sấy thăng hoa cho hiệu quả thu hồi các hoạt chất sinh học đạt cao nhất, cho mùi thơm và dễ nghiền tạo sản phẩm cao chiết dạng bột mịn.

- Sản phẩm cao chiết khô có độ ẩm đạt 4,2% phù hợp với yêu cầu chất lượng của bột cao khô trong Dược điển Việt Nam V (< 5%); hàm lượng polysaccharides đạt 3.489 mg/100 g, cordycepin đạt 179 mg/100 g và adenosine đạt 81 mg/100 g;

Sản phẩm dạng bột khô, tối, màu nâu, có mùi thơm đặc trưng của nấm Đông trùng hạ thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lim L., Lee C., Chang E. (2012). Optimization of solid state culture conditions for the production of adenosine, cordycepin, and Dmannitol in fruiting bodies of medicinal caterpillar fungus *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link (Ascomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 14, 181 - 188.
2. Marathe, S. J., Jadhav, S. B., Bankar, S. B., Dubey, K. K., & Singhal, R. S. (2019). Improvements in the extraction of bioactive compounds by enzymes. *Current opinion in food science*, 25, 62 - 72.
3. Nguyen Tien Thanh, Le Thi Lan Chi, Do Thi Thu Ha, Khuat Huu Thanh (2018). Extraction of Adenosin and Cordycepin from spent solid medium of *Cordyceps militaris* culture. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 56(4A) 221 - 228.
4. Hoang Chinh Nguyen, Dinh Huynh Mong Thi and Dinh Chuong Pham (2012). Optimization of extraction of polysaccharides from fruiting body of *Cordyceps militaris* (L.) Link using response surface methodology. Proceeding of the 2nd International Conference on Applied sciences (ICAS-2).
5. An, Dong, & Zhu, B. (2012). Optimization of enzyme extraction conditions of cordycepin polysaccharides using response surface methodology. *Agricultural Science & Technology*, 13(9), 1977 - 1981.
6. Vuong Hoai, T., Nguyen Cao, P., Phan Le Thao, M., Do, T. D., Hoang Minh, N., Ha, H. K. P., & Nguyen Huu, H. (2020). Ultrasound-assisted enzymatic extraction of adenosine from Vietnamese *Cordyceps militaris* and bioactivity analysis of the extract. *Journal of Chemistry*, 1 - 10. DOI:10.1155/2020/1487654.
7. Bộ Y tế (2017). Dược điển Việt Nam, phụ lục 1, trang 9. Lần xuất bản thứ 5. Nhà xuất bản Y học.
8. Bộ Y tế (2017). *Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19/12/2007 về "Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm"*.
9. Staub, A. M (1965). Removal of protein-sevag method. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 5, 5 - 6.
10. Pawar, H. A., & D'Mello, P. M (2011). Spectrophotometric estimation of total polysaccharides in Cassia tora gum. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(3), 93.
11. Ma, K. W., Chau, F. T., & Wu, J. Y. (2004). Analysis of the nucleoside content of Cordyceps sinensis using the stepwise gradient elution technique of thin-layer chromatography. *Chinese Journal of Chemistry*, 22(1), 85 - 91.
12. F Song, C Q Liu, D J Li, B Q Jin (2007). Optimization of cordycepin extraction from cultured Cordyceps militaris by HPLC-DAD coupled with uniform design. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 82(12), 1122 - 1126.
13. Zhang, W., Li, B., Dong, X., Wang, B., & Wu, Z. Y. (2017). Enzyme-assisted extraction of cordycepin and adenosine from cultured *Cordyceps militaris* and purification by macroporous resin column chromatography. *Separation Science and Technology*, 52(8), 1350 - 1358.
14. Zhu, Y., Li, Q., Mao, G., Zou, Y., Feng, W., Zheng, D., & Wu, X. (2014). Optimization of enzyme-assisted extraction and characterization of polysaccharides from *Hericium erinaceus*. *Carbohydrate polymers*, 101, 606 - 613.
15. Yin, X., You, Q., Jiang, Z. (2011). Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from *Tricholoma matsutake* by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 86, 1358 - 1364.
16. Hoa, T. Q. (2018). Extraction of polysaccharides from lingzhi by ultrasonic-assisted enzymatic method. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 56(4A), 171 - 171.
17. Vuong Hoai, T., Le Thao My, P., Do Dat, T., Viet, N. D., Phuc, N. C. M., Thao, N. H. & Hieu, N. H. (2021). Integrating of aqueous enzymeolysis with ethanolic ultrasonication to ameliorate cordycepin content from Vietnamese *Cordyceps militaris* and biological analysis of extracts. *Chemistry Select*, 6(1), 16 - 31.

18. Bansode, S. R., & Rathod, V. K. (2017). An synthesis: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, investigation of lipase catalysed sonochemical 38, 503 - 529.

STUDY ON TECHNOLOGICAL PRODUCTION OF EXTRACTS RICH IN ADENOSINE CORDYCEPIN AND POLYSACCHARIDES FROM *Cordyceps militaris* BY ULTRASONIC-ASSISTED ENZYMATIC HYDROLYSIS AT LABORATORY SCALE

**Bui Thi Huong Quynh¹, Hoang Huong Ngoc¹, Bui Thi Anh Nguyet²,
Hoang Ngoc Dung², Tran Thi Ngoc Anh², Le Thi Trang³, Le Thi Van Thanh³,
Nguyen Thi Huong Tra³, Nguyen Thi Thu Huyen³, Vu Thu Diem³, Bui Thi Huong³**

¹*University of Science - Vietnam National University, Hanoi*

²*Nhat Lan Green Biotechnology Company, Vietnam*

³*Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Post-Harvest Technology*

Abstract

In this study, the production technology for extracts rich in bioactive compounds including polysaccharides, cordycepin, and adenosine from *Cordyceps militaris* was investigated at the laboratory scale using ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. The results showed that the suitable extraction conditions were as follows: mushrooms were crushed to an average particle size of 1 mm, and the material-to-solvent ratio was 1:25. Extraction was performed by adding 1.5% Celluclast® and applying ultrasonication at 600 W for 20 minutes at 50°C, followed by incubation at 50°C for 85 minutes. The Celluclast enzyme was then inactivated at 80°C for 2 minutes. A second extraction was carried out by adding 0.75% Alcalase® and applying the same procedure as with Celluclast and ultrasonication. The extract solution was filtered and concentrated by vacuum evaporation at 60°C for 170 minutes under a pressure of approximately 800 mbar, until the soluble solids content reached about 11.5°Brix. The extract powder was produced using freeze-drying: the concentrated solution was frozen at -30°C for 6 hours and subsequently freeze-dried under a pressure of 30 - 60 Pa with a condenser temperature of -60°C for 40 hours. The resulting dry extract powder had a moisture content of 4.2%, meeting the quality standard of the Vietnamese Pharmacopoeia V (<5%). The contents of polysaccharides, cordycepin, and adenosine were 3,498 mg/100 g, 179 mg/100 g, and 81 mg/100 g, respectively. These results indicate that the dry extract powder has significant potential for application in the production of functional foods and dietary supplement capsules derived from *Cordyceps militaris*.

Keywords: *Cordyceps militaris*, polysaccharides, cordycepin, adenosine, ultrasonic, Celluclast® 1.5 L enzyme, Alcalase® 2.4L FG enzyme.

Ngày nhận bài: 17/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 8/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 18/7/2025

Ngày duyệt đăng: 31/7/2025

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG TRONG QUÁ TRÌNH TRÍCH LY POLYPHENOL VÀ KHẢ NĂNG KHỬ GỐC TỰ DO TỪ LÁ XOÀI BA MÀU

Trần Xuân Hiến^{1*}, Lê Thị Thúy Hằng¹, Nguyễn Tấn Hùng²

¹*Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên,*

Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

²*Khoa Nông nghiệp và CNTP, Trường Đại học Tiền Giang*

* Email: txhien@agu.edu.vn

TÓM TẮT

Thành phần các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa trong lá xoài Ba Màu (*Mangifera indica* L.) hiện nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện trích ly gồm: Tỷ lệ lá xoài/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly đến hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính kháng oxy hóa dịch trích ly từ lá xoài Ba Màu. Kết quả khảo sát cho thấy, ở tỷ lệ lá xoài/nước thích hợp 1/12 (g/mL) kết hợp nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 5 phút thu nhận dịch trích ly có hàm lượng polyphenol tổng số đạt cao nhất $14,12 \pm 1,35$ (mgGAE/g chất khô) và khả năng khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) $76,83 \pm 3,08\%$. Nghiên cứu này góp phần cung cấp dẫn liệu khoa học tốt về lá xoài Ba Màu, tạo tiền đề cho việc ứng dụng dịch trích ly này để phát triển thực phẩm chức năng.

Từ khóa: *Khả năng khử gốc tự do DPPH, lá xoài, polyphenol, trích ly.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xoài Ba Màu (*Mangifera indica* L.) là loại cây ăn trái đang được trồng nhiều ở đồng bằng sông Cửu Long, đặc biệt là ở huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang. Lá xoài chứa nhiều hợp chất quan trọng về mặt y học như: Hàm lượng phenol tổng số (1,342 mg/g); flavonoid (1,054 mg/g); tannin (0,977 mg/g); alkaloid (0,300 mg/g); saponin (0,244 mg/g); protein thô (18,59%); carbohydrate (30,60%); vitamin A, B, C, E (121, 189, 30, 10 mg%); Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, P, N, Mn (28, 589, 368, 98, 343, 14, 480, 2, 3 mg) [1, 2]. Về mặt y học, hợp chất mangiferin có trong dịch triết xuất từ lá xoài được bào chế thành các dạng thuốc có tác dụng chữa bệnh như: Hạ huyết áp, chống lão hóa, suy giảm trí nhớ, tăng cường khả năng miễn dịch của tế bào, chống trầm cảm, chống mỡ máu, chống xơ vữa động mạch, hạ đường huyết, ức chế glycogen thành gluco giảm nguy cơ tiểu đường... Đặc biệt hoạt chất β -taraxerol trong lá xoài có khả năng làm giảm đường huyết (tương đương với Glucophage -

thuốc điều trị tiểu đường tuýp 2 hiện nay) [3, 4]. Hợp chất polyphenol là nhóm chất kháng oxy hóa có khả năng ngăn chặn các chuỗi phản ứng dây chuyền bằng cách phản ứng trực tiếp với gốc tự do và tạo thành một gốc tự do mới bền hơn, hoặc cũng có thể tạo phức với các ion kim loại chuyển tiếp vốn là xúc tác cho quá trình tạo gốc tự do [5]. Các hợp chất polyphenol được biết như chất chống oxy hóa và chúng có thể “trung hòa” các gốc tự do được tạo thành trong cơ thể do ảnh hưởng của các tác nhân có hại từ môi trường sống, là nguyên nhân gây ra các quá trình oxy hóa phân tử sinh học, dẫn đến làm hỏng các tế bào và gây ra những thay đổi cấu trúc mô [6, 7]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá các thông số ảnh hưởng đến khả năng trích ly hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng khử gốc tự do có trong dịch chiết từ lá xoài Ba Màu. Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp dữ liệu khoa học về điều kiện trích ly lá xoài Ba Màu để thu được hàm lượng polyphenol và khả năng khử gốc tự do cao nhất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Lá xoài Ba Màu (*Mangifera indica* L.) sử dụng trong nghiên cứu khoảng 30 ÷ 45 ngày tuổi kể từ khi mọc mầm (thường gọi là lá trung niên), được thu nhận trực tiếp vào buổi sáng (7 ÷ 9 giờ) tại các vườn xoài của Hợp tác xã Cù Lao Giêng (xã Bình Phước Xuân, huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang). Lá xoài Ba Màu sau khi thu hoạch đặt trong thùng carton vận chuyển về phòng thí nghiệm trong ngày, sau đó tiến hành rửa sạch với nước để tẩy sạch tạp chất trên lá, để ráo và đưa vào tủ trữ ở nhiệt độ mát (5 ÷ 10°C) để tiến hành các thí nghiệm. Trước khi tiến hành trích ly, lá xoài được nghiền nhỏ với kích thước trung bình 0,5 mm.

Các hóa chất phân tích khác như axit gallic chuẩn (Sigma), thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck) cung cấp từ Công ty Cổ phần Hóa chất miền Nam, chi nhánh Cần Thơ.

2.2. Các chỉ tiêu phân tích và xử lý số liệu

Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định bởi phương pháp Folin-Ciocalteu có điều chỉnh. Lá xoài được nghiền và chiết với nước, lọc với giấy lọc. Hút 0,1 mL dịch lọc cho vào bình định mức 10 mL, thêm 1,5 mL thuốc thử Folin 1/10, lắc đều để yên 5 phút. Tiếp tục thêm vào bình định mức 4 mL dung dịch Na₂CO₃ 20%, sau đó định mức

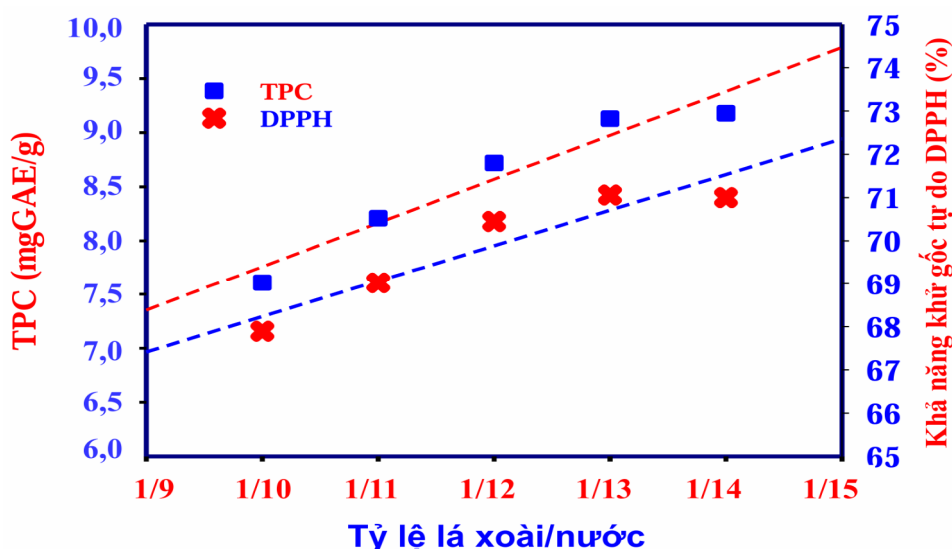
lên 10 mL bằng nước cất. Hỗn hợp được ủ trong điều kiện bóng tối trong 30 phút để phản ứng xảy ra hoàn toàn. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 738 nm. Đơn vị tính bằng mg đương lượng axit galic (mgGAE/g chất khô) với đường chuẩn với axit gallic (GA) [8].

Hoạt tính kháng oxy hóa được đánh giá dựa trên khả năng trung hòa gốc tự do thông qua phản ứng mất màu tím của dung dịch 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) trong nước. Hút 3 mL dịch trích, thêm 1 mL thuốc thử DPPH 0,1 mM vào ống sậm màu, tiến hành vortex và để phản ứng 30 phút trong bóng tối. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Tính toán: $DPPH (\%) = \frac{(Abs_{blank} - Abs_{mẫu}) * 100}{Abs_{blank}}$, trong đó: Abs_{blank} là giá trị độ hấp thụ của mẫu trắng [9].

Điều kiện trích ly được thực hiện trên nguyên tắc khi khảo sát ảnh hưởng của yếu tố nào thì yếu tố đó thay đổi, cố định các yếu tố còn lại. Thí nghiệm sau kế thừa kết quả của thí nghiệm trước. Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện lặp lại ba lần. Kết quả thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Centurion 15.2.11.0. Phân tích phương sai ANOVA với kiểm định LSD được sử dụng để xác định sự khác biệt ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng tỷ lệ lá xoài và nước



Hình 1. Ảnh hưởng tỷ lệ lá xoài/nước đến TPC và khả năng khử gốc tự do DPPH

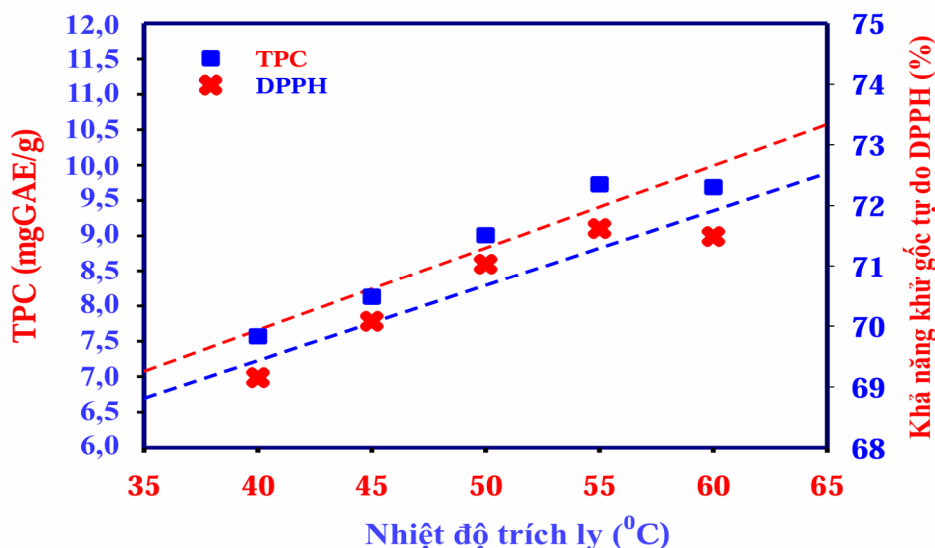
Trong nghiên cứu này ảnh hưởng của tỷ lệ lá xoài/nước lên polyphenol tổng số và hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly cũng được khảo sát ở các tỷ lệ khác nhau từ 1/10 ÷ 1/14 (g/mL). Các yếu tố khác được cố định như: Nhiệt độ trích ly 40°C và thời gian trích ly 3 phút, kết quả khảo sát thể hiện trên hình 1. Hình 1 cho thấy, tỷ lệ lá xoài/nước có ảnh hưởng đáng kể đến polyphenol tổng số ($p < 0,05$). Về xu hướng chung, hàm lượng polyphenol tổng số trong dịch chiết tăng khi tăng tỷ lệ lá xoài/nước. Ở tỷ lệ 1/12 (g/mL) cho polyphenol tổng số cao nhất ($8,72 \pm 0,93$ mgGAE/g) và khác biệt không ý nghĩa với các tỷ lệ lá xoài/nước 1/13 và 1/14. Quá trình hòa tan các hoạt chất sinh học vào dung môi nước là một quá trình vật lý, khi lượng nước tăng tạo cơ hội cho các chất có hoạt tính sinh học tiếp xúc với nước, dẫn đến khả năng thẩm thấu cao hơn. Khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lớn, nghĩa là có sự khác biệt giữa dung môi và chất tan trở nên lớn, vì vậy nhiều hoạt chất sinh học có thể hòa tan nếu lượng dung môi được sử dụng nhiều hơn [10].

Theo Tan và cs (2013) [11], tỷ lệ dung môi cao tạo điều kiện thuận lợi trong việc trích ly hợp chất polyphenol, điều này hoàn toàn phù hợp với

kết quả ghi nhận được trong nghiên cứu này. Bên cạnh đó, khi thay đổi tỷ lệ lá xoài/nước thì khả năng kháng oxy hóa dịch chiết cũng thay đổi, khả năng khử gốc tự do dịch trích ly cũng tăng từ $67,89 \pm 1,98\%$ lên $71,06 \pm 2,04\%$ tương ứng với tỷ lệ lá xoài/nước tăng từ 1/10 đến 1/14 (g/mL) (Hình 1). Tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy gradient nồng độ càng tăng, dẫn đến tăng tốc độ khuếch tán cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn [10]. Ngoài ra, cơ hội của các thành phần có hoạt tính sinh học tiếp xúc với dung môi trích ly được mở rộng khi gia tăng lượng dung môi, dẫn đến tăng hiệu suất trích ly, tuy nhiên, lượng các thành phần có hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng khi đã đạt được sự cân bằng [12]. Như vậy, tỷ lệ lá xoài/nước từ 1/11 đến 1/13 (g/mL) là khoảng thích hợp cho quá trình trích ly và được chọn cho bước nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng nhiệt độ trích ly

Ảnh hưởng nhiệt độ trích ly đến polyphenol tổng số và khả năng khử gốc tự do của lá xoài được khảo sát với nhiệt độ thay đổi từ 40 ÷ 60°C trong 3 phút, tỷ lệ lá xoài/nước 1/11 (g/mL).



Hình 2. Ảnh hưởng nhiệt độ trích ly đến TPC và khả năng khử gốc tự do DPPH

Hình 2 cho thấy, nhiệt độ trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến polyphenol tổng số và khả năng khử gốc tự do của lá xoài ($p < 0,05$). Khi tăng nhiệt độ trích ly từ 40 ÷ 60°C, thì hàm lượng polyphenol tăng lên đáng kể từ $7,57 \pm 0,78$ đến $9,69 \pm 0,92$ (mgGAE/g) tương ứng với sự gia tăng

của %DPPH là $69,15 \pm 2,15$ đến $71,49 \pm 2,02\%$. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Mariam và cs (2024) [10] khi trích ly polyphenol ở nhiệt độ 40 ÷ 50°C. Ngoài ra, khi tăng nhiệt độ thì khả năng thu nhận được nhiều các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa hơn (polyphenol nhiều

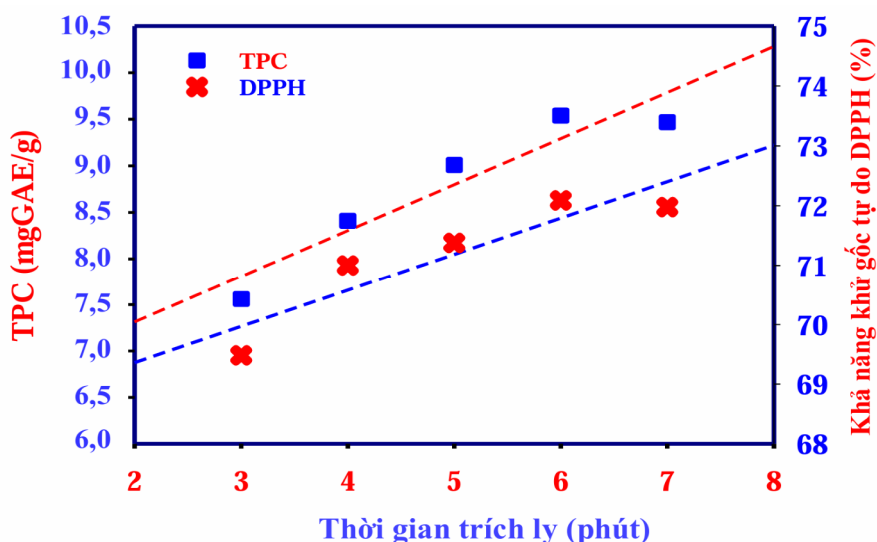
hon), do vậy hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng lên [11]. Từ những kết quả đạt được, chọn nhiệt độ trích ly trong khoảng từ 45 ÷ 55°C cho những thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng thời gian trích ly

Quá trình trích ly được thực hiện ở một số thông số cố định: Tỷ lệ lá xoài/nước 1/11 (g/mL), nhiệt độ trích ly 45°C với thời gian trích ly thay đổi từ 3 ÷ 7 phút.

Hình 3 cho thấy, thời gian trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol và khả năng khử gốc tự do. Theo đó, hàm lượng polyphenol tổng số và DPPH tăng lên nhanh chóng theo thời gian trích ly và sau đó đạt đến sự ổn định với sự gia tăng thời gian trích ly từ thời gian 5 phút trở lên ($9,01 \pm 0,72$ mgGAE/g và $71,38 \pm 2,19\%$). Thời gian trích ly kéo dài thì mức độ trích ly tốt dẫn đến lượng thành phần có hoạt tính chống oxy hóa của

dịch trích ly tăng. Tuy nhiên, khi thời gian trích ly càng kéo dài thì lượng thành phần có hoạt tính chống oxy hóa của trích ly có xu hướng giảm ($9,47$ mgGAE và $71,97\%$ ở 7 phút). Nguyên nhân của chiều hướng này có thể là do sự suy thoái của các hợp chất phenolic do sự hiện diện của oxy trong môi trường trích ly, kết quả này cũng có thể được giải thích bằng định luật Fick [13] về sự khuếch tán khi dự đoán trạng thái cân bằng cuối cùng giữa nồng độ chất tan trong ma trận chất rắn trong dung môi có thể đạt được sau một thời gian nhất định. Theo kết quả nghiên cứu của Zheng và cs (2019) [14] khi xây dựng mô hình mô tả quá trình tách chiết polyphenol từ lá *Camellia sinensis* cho thấy, thời gian cũng ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol. Từ kết quả đạt được, chọn khoảng thời gian trích ly từ 4 ÷ 6 phút cho nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng thời gian trích ly đến TPC và khả năng khử gốc tự do DPPH

3.4. Tối ưu hóa quá trình trích ly lá xoài Ba Màu

Sử dụng mô hình bề mặt đáp ứng tiến hành tối ưu hóa quá trình trích ly với ba nhân tố ảnh hưởng chính gồm tỷ lệ lá xoài nước (X_1 : 1/11, 1/12 và 1/13 g/mL), nhiệt độ trích ly (X_2 : 45, 50 và 55°C) và thời gian trích ly (X_3 : 4, 5 và 6 phút). Phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology-RSM) thiết kế theo mô hình Box-BehnKen được lựa chọn để ước tính tác động của các nhân tố đối với polyphenol và khả năng khử gốc tự do DPPH) trong lá xoài Ba Màu. Phạm vi

dao động của các nhân tố bố trí là kết quả thí nghiệm thăm dò ảnh hưởng của từng nhân tố riêng lẻ. Thiết kế được thực hiện bằng phần mềm Staghraphics Centurion XV.I. Ma trận quy hoạch thực hiện được trình bày ở bảng 1.

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol tổng số của dịch trích ly, tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy tốc độ khuếch tán, nâng cao khả năng tiếp xúc, cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn [15]. Lượng dung môi quá thấp không đủ khả năng tạo động lực cho quá trình thẩm thấu,

khuyết tán vào nguyên liệu, các hợp chất chiết không được hòa tan triệt để vào dung môi. Ngoài ra, nếu lượng dung môi cao thì oxy hòa tan vào

dung môi càng lớn, sự có mặt của oxy không chỉ làm giảm hàm lượng mà còn làm suy yếu hoạt tính của polyphenol [16].

Bảng 1. Các biến nhân tố và khoảng giá trị biến trong quy hoạch thực nghiệm

Biến số	Kí hiệu	Đơn vị	Mức		
			Thấp	Trung bình	Cao
Tỷ lệ lá xoài/nước	X ₁	g/mL	1/11 (-1)	1/12 (0)	1/13 (+1)
Nhiệt độ trích ly	X ₂	°C	45 (-1)	50 (0)	55 (+1)
Thời gian trích ly	X ₃	phút	4 (-1)	5 (0)	6 (+1)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ xoài/nước có ảnh hưởng đáng kể đến giá trị TPC, giá trị TPC tăng khi tăng tỷ lệ lá xoài/nước. Kết quả này phù hợp với nguyên tắc truyền khối mà động lực cho khối lượng chuyển khối được coi là gradient nồng độ giữa chất rắn và dung môi. Tuy nhiên, sản lượng các thành phần có hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng khi đã đạt sự cân bằng [17], do đó việc chọn tỷ lệ lá xoài/nước phù hợp không những nâng cao hiệu quả thu nhận TPC mà còn giúp hạn chế tối đa sử dụng lãng phí một lượng dung môi nhằm tiết kiệm chi phí. Bên cạnh đó các hợp chất polyphenol đều là những chất có khả năng chống oxy hóa và bản thân chúng cũng rất dễ bị oxy hóa hay bị phân hủy, nhất là khi có tác dụng của nhiệt độ, nhiệt độ trích ly tác động đến khả năng hòa tan, tốc độ truyền khối và sự ổn định của các hợp chất polyphenol, sự gia tăng nhiệt độ phù hợp có thể làm tăng hiệu quả trích ly do làm giảm độ nhớt, tăng khả năng thẩm thấu của dung môi vào tế bào, tăng khả năng hòa tan và hệ số khuếch tán của các hợp chất được trích ly [18]. Nhiệt độ phù hợp còn có thể làm mềm các mô, làm suy yếu vách tế bào, làm thủy phân các hợp chất polyphenol liên kết cũng như tăng cường khả năng hòa tan phenolic, vì vậy nhiều polyphenol sẽ hòa tan vào trong các dung môi. Vượt quá giới hạn nhiệt độ trích ly sẽ làm giảm giá trị TPC có do sự phân hủy các hợp chất polyphenol từ sự thủy phân, oxy hóa khử và polymer hóa [16]. Ngoài nhiệt độ trích ly thì thời gian trích ly cũng khá quan trọng trong việc chiết xuất các hợp chất phenolic bằng dung môi, thời

gian trích ly thích hợp giúp tiết kiệm thời gian và chi phí của quá trình thực hiện [19]. Khi kéo dài thời gian trích ly từ 4 ÷ 6 phút, giá trị TPC trong dung môi tăng lên, việc kéo dài thời gian trích ly đã cải thiện được hiệu suất trích ly, tuy nhiên khi thời gian trích ly kéo dài sẽ có hiệu suất trích ly không cải thiện đáng kể và thậm chí có hiệu quả tiêu cực, không như mong đợi, có thể hàm lượng polyphenol sẽ giảm [20]. Sau khi xử lý dữ liệu thực nghiệm cho thấy, kết quả thử nghiệm có ý nghĩa đối với mỗi hệ số hồi quy, sự phù hợp của mô hình được kiểm tra qua hệ số xác định tương quan R². Mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm đã thỏa điều kiện với thông số R² cao (R² = 0,98) và tất cả các hệ số của giá trị p đều thể hiện mức độ ý nghĩa cao. Phương trình hồi quy (1) mô tả hàm lượng TPC quá trình trích ly dịch chiết lá xoài Ba Màu như sau:

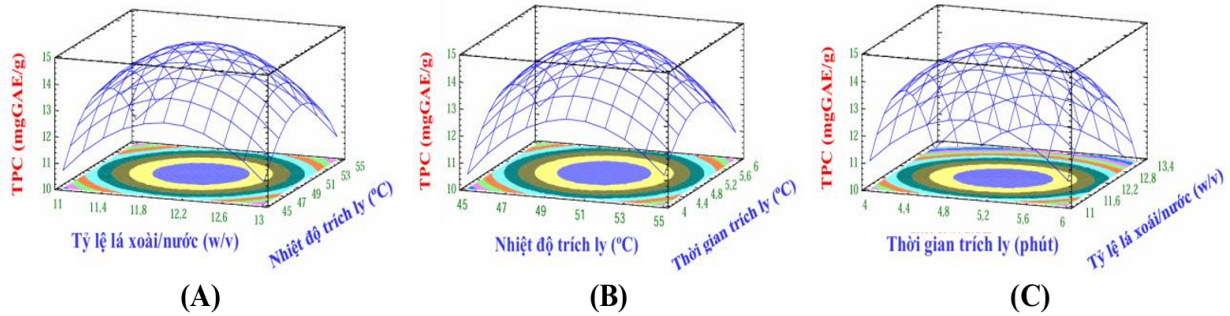
$$\text{TPC} = -535,103 + 48,0793X_1 + 8,57805X_2 + 18,4711X_3 - 2,02608X_1^2 - 0,00975X_1X_2 + 0,2135X_1X_3 - 0,0822242X_2^2 - 0,04535X_2X_3 - 1,85958X_3^2 \quad (1)$$

Phương trình hồi quy (1) có dạng hàm bậc 2 và đạt được sự tương quan khá tốt với phân tích phương sai (ANOVA) có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Kết quả này cho thấy, cả ba nhân tố trích ly đều có ảnh hưởng đáng kể đến giá trị TPC. Kết quả này cũng phù hợp với xu hướng chung của các quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu thực vật.

Theo đó, các yếu tố công nghệ khác nhau có chiều ảnh hưởng cũng khác nhau. Kết quả từ mô hình cho thấy, các yếu tố công nghệ riêng lẻ như

tỷ lệ lá xoài/nước (X_1), nhiệt độ trích ly (X_2), thời gian trích ly (X_3) đều có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y (TPC), khi thay đổi giá trị các yếu tố

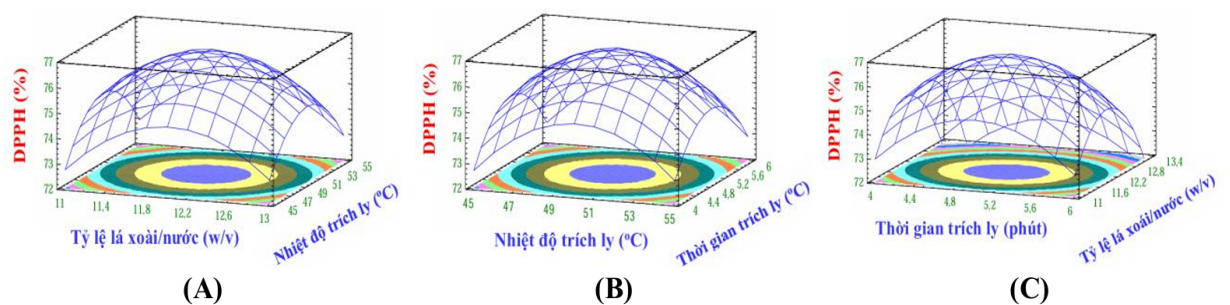
công nghệ này sẽ dẫn đến làm thay đổi giá trị cho hàm mục tiêu với hệ số tương quan khá cao ($R^2 = 0,98$).



Hình 4. Mô hình hồi quy thu nhận polyphenol (TPC) theo tỷ lệ lá xoài/nước (A), nhiệt độ (B) và thời gian trích ly (C) tại điểm tối ưu

Nếu chỉ xét hệ số tương quan R^2 , Simon và cs (2024) [21] nhận định một mô hình hồi quy đa biến theo phương pháp bề mặt đáp ứng phù hợp nên có hệ số xác định (R^2) tối thiểu 0,80 - giá trị này thấp hơn nhiều so R^2 trong nghiên cứu trên. Điều này có nghĩa là phương trình (1) giải thích được 98% các dữ liệu thu nhận thực tế. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đường viền giản đồ được thể hiện ở hình 4 mô tả sự thay đổi giá trị TPC dưới ảnh hưởng của các điều kiện trích ly. Hình 4 cho thấy, cả ba nhân tố trích ly như: Tỷ lệ xoài/nước (X_1), nhiệt độ trích ly (X_2), thời gian trích ly (X_3) đều có ảnh hưởng đến quá trình trích ly TPC từ lá xoài Ba Màu. Qua hình 4 cũng chỉ ra rằng, cả ba nhân tố bao gồm: X_1 , X_2 và X_3 đều có tương tác với nhau và

ảnh hưởng đến hàm mục tiêu. Khi tăng X_1 , X_2 và X_3 hàm lượng TPC tăng, nhưng nếu tiếp tục tăng các yếu tố đó thì hàm lượng TPC sẽ giảm. Bằng các thuật toán phân tích tối ưu sử dụng chương trình Portable Statgraphics Centurion XV.1 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu, kết quả: Thông số tối ưu cho quá trình trích ly thu nhận TPC từ lá xoài Ba Màu, nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 5 phút, đạt giá trị TPC tối ưu là 14,12 mgGAE/g khi sử dụng 1/12 g/mL. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương tự với công bố của Kossah và cs (2010) [16] khi tiến hành tối ưu hóa việc thu nhận hàm lượng polyphenol trong một số thực vật theo mô hình bề mặt đáp ứng.



Hình 5. Mô hình hồi quy khả năng khử gốc tự do DPPH theo tỷ lệ lá xoài/nước (A), nhiệt độ (B) và thời gian trích ly (C) tại điểm tối ưu

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi cũng như nhiệt độ đều có ảnh hưởng đến khả năng khử gốc tự do dịch trích ly, nhiệt độ cao gây ra các tương tác giữa các phân tử trong dung môi, làm tăng chuyển động các phân tử, do đó nâng cao sự dịch chuyển các chất và làm tăng độ hòa tan, kết quả là hiệu

quả trích ly cao hơn [15]. Bên cạnh đó việc kéo quá dài thời gian trích ly làm giảm khả năng khử gốc tự do DPPH dịch trích ly [22]. Thực nghiệm cho thấy, khi thay đổi tỷ lệ lá xoài/nước, khả năng khử gốc tự do DPPH dịch lá xoài cũng thay đổi theo, tỷ lệ lá xoài/nước tăng từ 1/11 ÷ 1/13

(g/mL) thì khả năng khử gốc tự do dịch trích ly cũng tăng, kết quả nghiên cứu này khá phù hợp với nghiên cứu của Gunathilake và cs (2019) [23] cho rằng, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng có ý nghĩa đến khả năng khử gốc tự do của dịch trích ly từ một số thực vật. Kết quả thực nghiệm nhận thấy nhiệt độ trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến khả năng khử gốc tự do của lá xoài Ba Màu ($p < 0,05$), khi tiếp tục nâng nhiệt thì hiệu quả trích ly khuynh hướng giảm nhưng với tốc độ giảm chậm hơn [23]. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Chu và cs (2022) [24] cho rằng, khả năng khử gốc tự do DPPH cũng bị tác động bởi nhiệt độ. Mặt khác khi thời gian trích ly kéo dài từ 4 ÷ 6 phút nhận thấy, khả năng khử gốc tự do cũng bị tác động, kết quả này cũng khá tương đồng với những nghiên cứu của Herrera-Calderon và Vega (2020) [25] cho rằng, thời gian chi phối việc chiết xuất khả năng khử gốc tự do DPPH trong một số loài thực vật. Mô hình được kiểm tra qua hệ số xác định tương quan R^2 , mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm đã thỏa mãn điều kiện với thông số R^2 cao ($R^2 = 0,98$) và tất cả các hệ số của giá trị p đều thể hiện mức độ ý nghĩa cao. Phương trình hồi quy (2) mô tả khả năng khử gốc tự do quá trình trích ly dịch chiết lá xoài Ba Màu như sau:

$$\begin{aligned} \text{DPPH} = & -450,059 + 45,4495X_1 + 8,22743X_2 + \\ & 19,0889X_3 - 1,88792X_1^2 - 0,009575X_1X_2 + \\ & 0,078875X_1X_3 - 0,0805939X_2^2 - 0,007775X_2X_3 - \\ & 1,96078X_3^2 \quad (2) \end{aligned}$$

Bằng các thuật toán phân tích tối ưu sử dụng chương trình Portable Statgraphics Centurion XV.1 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu, kết quả: Khả năng khử gốc tự do DPPH đạt giá trị tối ưu là 76,83% với tỷ lệ lá xoài/nước 1/12 (g/mL), nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 5 phút. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương tự với kết quả của Bharathi và cs (2011) [26] về khả năng khử gốc tự do DPPH khi tối ưu hóa khả năng chiết xuất dịch từ một số loài thực vật theo phương pháp bề mặt đáp ứng.

4. KẾT LUẬN

Sau quá trình nghiên cứu thu được kết quả quá trình trích ly thu nhận các hợp chất có hoạt

tính sinh học và khả năng khử gốc tự do trong dịch trích từ lá xoài Ba Màu tối ưu đạt được từ mô hình với tỷ lệ lá xoài/nước 1/12 (g/mL), nhiệt độ trích ly 50°C trong thời gian 5 phút có hàm lượng polyphenol tổng $14,12 \pm 1,35$ (mgGAE/g chất khô) và khả năng loại gốc tự do DPPH là $76,83 \pm 3,08\%$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ali, B. A., Alfa, A. A., Tijani, K. B., Idris, E. T., Unoyiza, U. S. and Junaidu, Y. (2020). The health benefits of nutrition and the bioactive compounds in leaves *Mangifera indica* L. *Journal of Research on Asian Plants*, 6(2): 41 - 51.
2. Manoj, K., Vivek, S., Maharishi, T., Muzaffar, H., Sushil, C., Minnu, S., Chirag, M., Uma, P., Surinder, S., Rakesh, K. P, Sangram, D., Sneha, P., Ryszard, A and Mohamed, M. (2021). Mango (*Mangifera indica* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Journal antioxidants* (MDPI), 10(290): 1 - 23.
3. Sangeetha, K. N., Shilpa, K., Kumari, P. J. and Lakshmi, B. S. (2013). Reversal of dexamethasone induced insulin resistance in 3T3L1 adipocytes by 3β-taraxerol of *Mangifera indica*. *Phytomedicine*, 20(3 - 4): 213 - 220.
4. Sepideh, A. Z., Amy, P. M., Bahram, A. and Vivian, H. Z. (2023). Antidiabetic properties of mango in animal models and humans: A systematic review. *Nutrition Research*, 111: 73 - 89.
5. Upasana, B. and Jyotirekha, G. H. (2022). Plant polyphenols as potent antioxidants: Highlighting the mechanism of antioxidant activity and synthesis/development of some polyphenol conjugates. *Studies in Natural Products Chemistry*, 75: 243 - 266.
6. Bolanho Beatriz Cervejeira and Adelaide Del Pino Beléia (2011). *Bioactive compounds and antioxidant potential of soy products*. *Alim. Nutr., Araraquara*, 22(4): 539 - 546.
7. Brglez M. E., Skerget, M., Knez, Z. and Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21: 901.

8. Susu Jiang, Weixi Cai and Baojun Xu (2013). Food quality improvement of soy milk made from short-time germinated soybeans. *Foods*, 2:198 - 212.
9. Anshu Singh, Arindam Kuila, Geetanjali Yadav and Rintu Banerjee (2011). Process optimization for the extraction of polyphenols from Okara. *Food Technology Biotechnol*, 49(3): 322 - 328.
10. Mariam, T., Krasimir, D., Jennifer, S., Benjamin, C., Sevser, S., Nicolas, B., Caroline, W. and Céline, R. (2024). Optimizing the extraction of bioactive compounds (polyphenols, lipids and alpha-tocopherol) from almond okara to unlock its potential as functional food. *Journal Foods*, 13(17): 2828.
11. Tan, M. C., Tan, C. P and Ho, C. W. (2013). Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International Food Research Journal*, 20(6): 3117 - 3123.
12. Wong, B., Tan, C. P and Ho, C. (2013). Effect of solid-to-solvent ratio on phenolic content and antioxidant capacities of *Phyllanthus niruri*. *International Food Research Journal*, 20: 325 - 330.
13. Zhijing, Y., Jinlin, S., Roland, H., Richard, H. and Alaa, E. A. B. (2023). Studies on the effect of oxidation on bioactivity of phenolics and wine lees extracts. *Journal Antioxidants*, 12(931): 1 - 20.
14. Zheng, Q., Li, W., Zhang, H., Gao, X. and Tan, S. (2019). Optimizing synchronous extraction and antioxidant activity evaluation of polyphenols and polysaccharides from Ya'an Tibetan tea (*Camellia sinensis*). *Journal Food Science Nutrition*, 8(1): 489 - 499.
15. Wenjuan, Q., Zhongli, P., and Haile, M. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering*, 99: 16 - 23.
16. Kossah, R., Nsabimana, C., Zhang, H. and Chen, W. (2010). Optimization of extraction of polyphenols from syrian sumac and chinese sumac fruits. *Research Journal of Phytochemistry*, 4: 146 - 153.
17. Gulua, L., Khutsidze, T., and Turmanidze, T. (2024). Modeling of polyphenols extraction process from green tea and the effect of temperature on the process. *International Journal of Science and Research Archive*, 12(1): 2115 - 2124.
18. Wissam, Z., Ghada, B., Wassim, A. and Warid, K. (2012). Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3): 675 - 682.
19. Hiba, N. R., Nada, E. D., Zeina, H., Nadia, B., Eugene, V., Richard, G.M. and Nicolas. L. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from Grape by products by response surface methodology. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 397 - 409.
20. Rajha, N. H., Darra, E. N., Hobaike, Z., Bouseetta, N., Vorobiev, E., Maroun, G. R. and Louka, N. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannin from grape byproducts by response surface methodology. *Journal Food Nutrition Science*, 5: 397 - 409.
21. Simon, B., Moses, K., Jackline, N. and Ibrahim, K. (2024). Response surface methodology: A review on optimization of adsorption studies. *Asian Journal of Chemical Sciences*, 14(6): 106 - 113.
22. Wiyeh, C. B. M, Zangue, S. C. D. and Nso, E. J. (2021). Optimization of extraction conditions of phenolic compounds from *Cymbopogon citratus* and evaluation of phenolics and aroma profiles of extract. *Journal Heliyon*, 7: e06744.
23. Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S. and Rupasinghe, H. P. V. (2019). Response surface optimization for recovery of polyphenols and carotenoids from leaves of centella asiatica using an ethanol-based solvent system. *Food Science Nutrition*, 7: 528 - 536.
24. Chu, J., Ming, Y. F., Qi, C., Zheng, N., Yang, S., Li, W., Gao, H., Zhang, R. and Cheng, X. (2022). Efficient extraction and antioxidant activity of polyphenols from *Antrodia cinnamomea*. *Journal BMC Biotechnology*, 22: 9.

25. Herrera-Calderon, O. and Vega, R. (2020). Optimization of the extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from the roots of *Waltheria ovata* using the response surface methodology. *Journal Food Research*, 4(6): 2095 - 2102.
26. Bharathi, V., Patterson, J., and Rajendiran, R. (2011). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from *Avicennia marina* (Forssk) Vierh using response surface methodology. *World Acad. Science Engineering Technology*, 56: 1191 - 1195.

STUDY ON EFFECTS OF SOME FACTORS IN POLYPHENOL EXTRACTION PROCESS AND ABILITY OF DEOXIDIZED FREE RADICAL OF BA MAU MANGO LEAVES

Tran Xuan Hien¹, Le Thi Thuy Hang¹, Nguyen Tan Hung²

*¹Faculty of Agriculture and Natural Resources, An Giang University,
Vietnam National University Ho Chi Minh city*

²Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University

Abstract

There have not been many studies assessing the composition of valuable bioactive compounds in white Ba Mau mango leaves (*Mangifera indica* L.). This current study was conducted to investigate the effects of mango leaves/water, temperature and extraction time on total polyphenol content and antioxidant activity from the white mango leaves. The results showed that appropriate ratio of mango leaves/water of 1/12 (w/v), extraction temperature 50°C and extraction time of 5 minutes, the total phenolic content (TPC) of 14.12 ± 1.35 mgGAE/g, the DPPH free radical scavenging of $76.83 \pm 3.08\%$. This study provides scientific data on the potential values of white mango leaves, establish a foundation for applying this extraction technology to develop functional foods.

Keywords: *DPPH radical scavenging, extraction, mango leaves, phenolics.*

Ngày nhận bài: 29/4/2025

Ngày chuyển phản biện: 16/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 26/6/2025

Ngày duyệt đăng: 22/7/2025

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN SẤY BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY NHIỆT ĐẾN CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM THỊT VỊT TẨM GIA VỊ SẤY GIÒN

Nguyễn Hồng Xuân^{1,*}, Nguyễn Thị Kiều Diễm²,

Trần Bạch Long³, Nguyễn Trọng Ngự⁴

¹ Khoa Công nghệ Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

² Khoa Công nghệ - Thủy sản, Trường Cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Cần Thơ

³ Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

⁴ Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ

* Email: nhxuan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Với mục tiêu nghiên cứu về điều kiện sấy thích hợp để tạo sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn, khảo sát được tiến hành với các mức nhiệt độ là 60, 70, 80°C cùng các mức thời gian là 3, 4, 5 giờ. Các mẫu sản phẩm được đánh giá chất lượng dựa trên các chỉ tiêu về độ cứng, độ ẩm, đo màu sắc và đánh giá cảm quan với 4 yêu cầu về mùi, vị, màu sắc và cấu trúc của sản phẩm. Sản phẩm thành phẩm được xác định chất lượng thông qua các thông số về hàm lượng dinh dưỡng, chỉ tiêu hóa lý và vi sinh. Kết quả của quá trình sấy chọn được điều kiện thích hợp nhất để tạo sản phẩm là ở nhiệt độ 70°C trong 4 giờ. Với điều kiện này, độ ẩm của sản phẩm được xác định là 9,17%; độ cứng là 6,5 N; giá trị L^* là 28,58; giá trị a^* là 6; giá trị b^* là 8,85; bốn yếu tố về mùi, vị, màu và cấu trúc đạt điểm cao nhất ứng với mùi thơm đặc trưng, vị mặn và ngọt hài hòa, màu nâu đỏ hơi sậm, thịt khô giòn, cứng vừa phải, không gãy vụn. Bên cạnh đó, sản phẩm đạt chất lượng tốt với hàm lượng protein 60,86 g/100 g; lipid 5,07 g/100 g; chỉ số peroxide 0,0022% và NH_3 26 mg NH_3 /100 g. Chất lượng vi sinh vật trong giới hạn an toàn cho phép theo QCVN 8-3:2012 BYT. Qua đó cho thấy, tiềm năng ứng dụng và thương mại hóa sản phẩm thịt vịt trong thị trường thực phẩm khô.

Từ khóa: Cấu trúc, màu sắc, sấy giòn, sấy nhiệt, thịt vịt sấy, tẩm gia vị.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cuộc sống hiện đại bận rộn góp phần làm gia tăng các nhu cầu tiêu dùng sản phẩm thực phẩm tiện lợi và giàu dinh dưỡng. Thịt gia cầm sấy, đặc biệt là các sản phẩm từ thịt vịt, đang dần trở thành một xu hướng tiêu dùng mới tại Việt Nam và trên thế giới. Thịt vịt không chỉ có giá trị dinh dưỡng cao mà còn mang đặc trưng hương vị riêng so với thịt gà, phù hợp để phát triển các sản phẩm chế biến như thịt ướp gia vị sấy [1]. Tuy nhiên, quá trình sấy ảnh hưởng một cách đáng kể đến chất lượng cảm quan thể hiện qua các chỉ tiêu như: Màu sắc, độ giòn, hương vị; các giá trị dinh dưỡng như hàm lượng protein, lipid; cũng như độ

an toàn vi sinh của sản phẩm cuối cùng [2]. Trong đó, việc lựa chọn điều kiện sấy thích hợp về yếu tố nhiệt độ sấy và thời gian sấy đóng vai trò then chốt trong việc đảm bảo độ giòn mong muốn mà không làm mất đi các đặc tính dinh dưỡng tự nhiên của thịt vịt cũng như hương vị từ các loại gia vị tẩm ướp [3]. Một số nghiên cứu đã xác định rằng nhiệt độ sấy từ 60 - 100°C và thời gian sấy từ 2 - 6 giờ là khoảng biến động chính có ảnh hưởng lớn đến các chỉ tiêu chất lượng của các loại thịt sấy nói chung và thịt gia cầm nói riêng [4, 5]. Ngoài ra, thành phần và phương pháp tẩm ướp gia vị cũng ảnh hưởng đến mùi vị và mức độ chấp nhận của người tiêu dùng, tuy nhiên trong

nghiên cứu này, công thức gia vị được kế thừa từ quy trình sản xuất truyền thống đang được áp dụng tại các doanh nghiệp với các sản phẩm mang tên “khô gà” hay “lạp vịt” đang được thương mại hóa trên thị trường hiện nay. Công thức gia vị được chuẩn hóa ở bước chuẩn bị nguyên liệu cho phù hợp với nghiên cứu để tập trung khảo sát hai yếu tố kỹ thuật quan trọng là nhiệt độ và thời gian sấy. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định nhiệt độ và thời gian sấy tốt nhất trong chế biến sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn, thông qua việc đánh giá các chỉ tiêu về độ cứng, độ ẩm, màu sắc và đánh giá cảm quan về mùi, vị, màu, cấu trúc của sản phẩm. Bên cạnh đó, nghiên cứu tiến hành xác định chất lượng về giá trị dinh dưỡng, một số chỉ tiêu hóa lý và vi sinh của sản phẩm. Kết quả thu nhận được của nghiên cứu là cơ sở khoa học quan trọng để phát triển quy trình chế biến sản phẩm mới từ thịt vịt, góp phần đa dạng hóa sản phẩm thịt gia cầm, nâng cao giá trị gia tăng và đáp ứng nhu cầu tiêu dùng hiện đại.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

2.1.1. Nguyên vật liệu

Quá trình nghiên cứu sử dụng các loại nguyên liệu cụ thể là thịt ức vịt của Công ty Trách nhiệm hữu hạn Thực phẩm Hương vị Việt, Việt Nam; đường (Công ty TNHH Oro, Việt Nam); củ gừng tươi, rượu gạo (Thuần Việt, Việt Nam); muối (muối tinh Visaco, Việt Nam); ngũ vị hương (Công ty Vianco, Việt Nam); bột ớt (Công ty Vianco, Việt Nam); bột sả (Công ty Vianco, Việt Nam); tiêu (Công ty Vianco, Việt Nam); bột tỏi (Công ty Vianco, Việt Nam).

2.1.2. Mẫu thịt vịt bán thành phẩm

Thịt vịt được rửa sạch và tiến hành khử mùi tanh theo cách làm truyền thống áp dụng các loại nguyên liệu có khả năng khử mùi trong thực phẩm như: Gừng và rượu [6]. Thịt ức vịt được ngâm với hỗn hợp gừng tươi giã nhuyễn và rượu trắng (tỉ lệ 50%/khối lượng thịt vịt) trong 30 phút rồi rửa sạch với nước và để ráo. Cắt miếng dày 2 cm dọc theo xớ thịt. Phối trộn thịt ức vịt đã cắt miếng với các loại gia vị được kế thừa từ quy trình sản xuất

truyền thống và được chuẩn hóa cho phù hợp với điều kiện nghiên cứu (với hàm lượng tính trên khối lượng thịt ức vịt) như: Bột tỏi (4%), bột tiêu (0,5%), muối (1%), bột ớt (0,2%), bột sả (0,5%), bột ngũ vị hương (0,25%) và 50% nước lọc. Sau khi thịt và các loại gia vị được trộn đều, hỗn hợp được rim 20 phút ở 120°C. Thịt sau rim được ép mỏng đến độ dày 0,3 cm. Đây là các mẫu được chuẩn bị để tiến hành nghiên cứu tạo thành sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu thịt vịt sau khi được chuẩn bị lần lượt được đưa vào tủ sấy (MSD100-160, Mactech Việt Nam) và tiến hành sấy ở các mức nhiệt độ và thời gian theo [4] có điều chỉnh nhiệt độ sấy được kiểm soát là 60, 70, 80°C trong thời gian lần lượt là 3, 4, 5 giờ. Sản phẩm sau khi sấy được đo độ cứng, độ ẩm, đo màu sắc và đánh giá thị hiếu của người tiêu dùng. Sản phẩm thành phẩm tối ưu được chọn để phân tích chất lượng về lượng protein, lipid, peroxide, NH_3 và chất lượng về vi sinh vật (tổng số vi sinh vật hiếu khí, *E. coli* và *Salmonella* spp.).

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Độ cứng

Độ cứng (N) của sản phẩm được đo bằng phần mềm Texture Lab Pro (Force), version 1.18 - 408, máy TMS pro (Trung Quốc) theo chương trình nén một chu kỳ với đầu đo nhọn theo Lu và cs (2021) [7] có điều chỉnh phù hợp. Độ cứng là lực đỉnh (lực nén cực đại).

2.3.2. Độ ẩm

Độ ẩm của sản phẩm được xác định bằng máy sấy ẩm nhanh để bàn (KERN DBS 60-3, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Đức). Hoạt động của cân sấy ẩm dựa theo nguyên tắc trọng lực nhiệt với bộ phận gia nhiệt sử dụng hệ thống đèn halogen. Kết quả đo được hiển thị trên màn hình LCD của máy.

2.3.3. Các giá trị màu sắc

Màu sắc của sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn, thể hiện qua ba giá trị L^* , a^* và b^* , được đo bằng máy đo màu Colorlite sph870 (Đức). Trong

đó, giá trị L^* biểu thị độ sáng của sản phẩm. Giá trị a^* thể hiện độ đỏ và giá trị b^* biểu thị độ vàng của sản phẩm [8]. Độ sai lệch màu ΔE được xác định theo công thức $\Delta E = [(L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$.

2.3.4. Đánh giá cảm quan sản phẩm

Sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn được đánh giá cảm quan theo bốn chỉ tiêu: màu sắc, mùi, vị và cấu trúc, sử dụng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79 [9] (hiệu chỉnh) với thang điểm từ 0 - 5. Mười cảm quan viên đồng thời đánh giá tất cả mẫu thử. Điểm 5 phản ánh mức độ đặc trưng tốt nhất của từng chỉ tiêu: Màu nâu đỏ đẹp (màu sắc), mùi thơm đặc trưng (mùi), vị mặn ngọt hài hòa (vị), cấu trúc khô giòn, cứng vừa phải, không gãy vụn (cấu trúc). Các mức điểm thấp hơn tương ứng với mức độ suy giảm về chất lượng như màu cháy khét, mùi lạ, vị mất cân đối hoặc cấu trúc mềm, dễ gãy, rời rạc.

2.3.5. Đánh giá chất lượng của sản phẩm

Sản phẩm thành phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn (thành phẩm sau cùng được sấy ở nhiệt độ và thời gian tốt nhất được chọn từ kết quả của nghiên cứu) được phân tích đánh giá về thành phần hóa học như: Hàm lượng protein, lipid, peroxide, NH_3 và vi sinh vật như tổng số vi sinh vật hiếu khí, *E. coli* và *Salmonella* spp. được tiến hành kiểm nghiệm tại Trung tâm Chất lượng, Chế biến và Phát triển Thị trường vùng 6, thuộc Cục Chất lượng, Chế biến và Phát triển Thị trường (NAFIQPM) với các phương pháp thử của các chỉ tiêu được công nhận bởi ISO/IEC 17025 như: Hàm lượng protein, hàm lượng lipid, peroxide, NH_3 , tổng số vi sinh vật hiếu khí, *E. coli*, *Salmonella* spp.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Phần mềm thống kê Minitab 18 và Microsoft Excel 2013 được ứng dụng để xử lý số liệu của thí nghiệm nghiên cứu. Phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD được sử dụng để đánh giá sự khác biệt giữa trung bình của các nghiệm thức, với độ tin cậy 95%. Các kết quả được trình bày gồm giá trị trung bình của 3 lần lặp lại $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị P dưới 0,05 thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

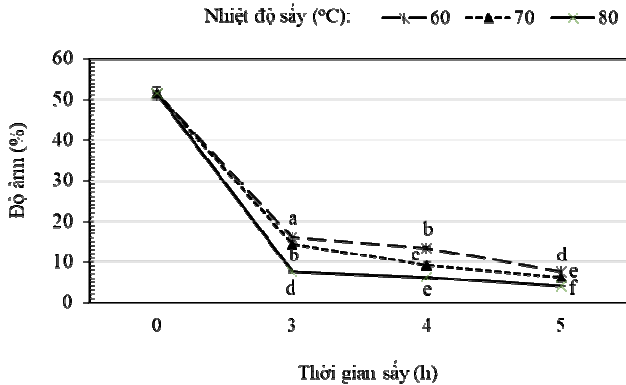
3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến độ cứng và độ ẩm của sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn

Quá trình sấy thu được kết quả ở hình 1 cho thấy, độ ẩm còn lại trong thịt vịt sấy giảm một cách rõ rệt khi nhiệt độ và thời gian sấy tăng một cách có ý nghĩa thống kê. Độ ẩm của sản phẩm cao nhất (15,97%) khi được sấy ở nhiệt độ thấp nhất và thời gian ngắn nhất (60°C trong 3 giờ), trong khi giá trị này đạt thấp nhất (3,99%) khi nhiệt độ sấy cao nhất kết hợp với thời gian sấy dài nhất (80°C trong 5 giờ). Xu hướng này được giải thích bởi sự gia tăng gradient nhiệt và tốc độ bay hơi nước tự do trong mô cơ khi nhiệt độ tăng, kết hợp với thời gian sấy kéo dài giúp loại bỏ nhiều nước hơn. Theo Mujumdar (2014) [10], tốc độ sấy tăng khi nhiệt độ môi trường cao hơn do sự chênh lệch áp suất hơi nước giữa bề mặt sản phẩm và không khí xung quanh tăng lên, từ đó thúc đẩy quá trình khuếch tán ẩm ra khỏi vật liệu sấy. Ngoài ra, ở nhiệt độ sấy 80°C trong 5 giờ (Hình 1) giúp độ ẩm dưới 5%; điều kiện này phù hợp với yêu cầu về độ giòn và an toàn vệ sinh thực phẩm [11]. Xu hướng giảm độ ẩm theo thời gian và nhiệt độ cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu thực nghiệm gần đây đối với sản phẩm thịt gia cầm và thịt đỏ sấy; cụ thể, với công bố về ảnh hưởng của điều kiện sấy đến chất lượng của thịt heo sấy [12], hay đối với thịt sấy [13].

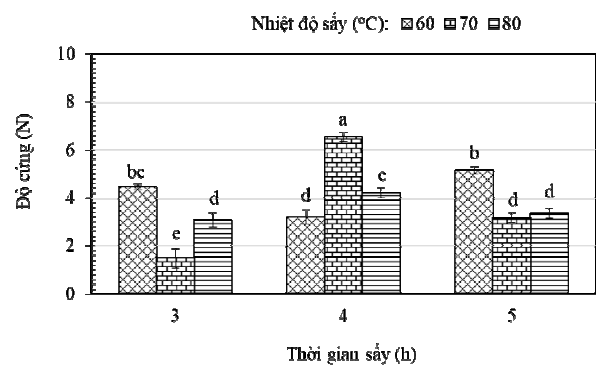
Kết quả về độ cứng của sản phẩm (Hình 2) thay đổi đáng kể theo nhiệt độ và thời gian sấy, dao động từ 1,48 - 6,5 N. Nhìn chung, độ cứng có xu hướng tăng khi độ ẩm giảm, nhưng mối quan hệ này không hoàn toàn tuyến tính. Cụ thể, mẫu được sấy ở 80°C trong 4 giờ có độ cứng (4,20 N) cao hơn so với mẫu sấy ở 70°C trong 5 giờ (3,17 N) với ở mức độ ẩm tương đương 6%. Điều này cho thấy, nhiệt độ là yếu tố có ảnh hưởng đáng kể đến độ cứng do quá trình biến tính protein và collagen, từ đó ảnh hưởng đến cấu trúc cơ học của sản phẩm dẫn đến việc cứng hóa không đồng đều [13]. Bên cạnh đó, trong điều kiện sấy nhiệt độ cao, thời gian dài, có thể tạo nên lớp vỏ ngoài khô cứng trong khi bên trong vẫn giữ ẩm, dẫn đến kết cấu không đồng nhất [14, 15]. Điều này giải thích vì

sao mẫu sấy ở 80°C trong 5 giờ dù có độ ẩm (3,99%) là thấp nhất nhưng độ cứng (3,36 N)

không đạt giá trị cao nhất là 6,5 N so với mẫu được sấy ở 70°C trong 4 giờ.



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến độ ẩm của sản phẩm



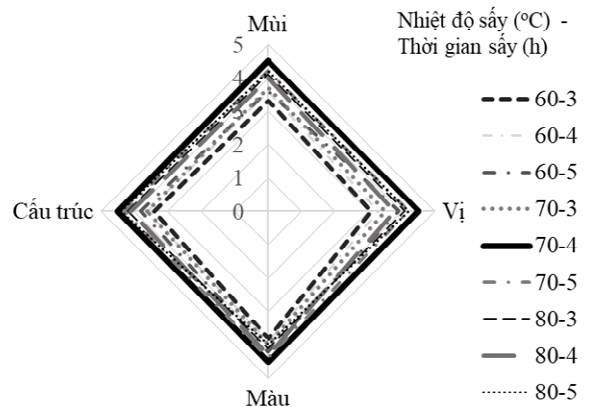
Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến độ cứng của sản phẩm

Ghi chú: Các chữ khác nhau trong hình biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05 theo phép kiểm định LSD giữa các mức nhiệt độ và thời gian sấy.

Độ ẩm và độ cứng của mẫu sau sấy có quan hệ hệ tỷ lệ nghịch khi độ ẩm càng giảm thì độ cứng có xu hướng tăng. Tuy nhiên, do tác động của nhiệt độ cùng sự thay đổi của cấu trúc vi mô cũng như mức độ biến tính protein được hình thành trong quá trình sấy làm cho sự thay đổi độ cứng không tỷ lệ thuận hoàn toàn với sự giảm độ ẩm [16]. Theo Pham và cs (2022) [17], thịt gà được sấy nhiệt kết hợp, điều kiện sấy từ 70 - 80°C trong 4 - 5 giờ có thể đạt được độ giòn và độ ẩm mong muốn để kéo dài thời gian bảo quản. Nhìn chung theo kết quả hình 1 và 2, độ ẩm giảm khi tăng nhiệt độ và thời gian; ngược lại, độ cứng tăng đến một mức độ rồi giảm nhẹ do tác động phức hợp của cấu trúc mô và biến tính protein. Nhiệt độ và thời gian sấy được chọn cần được xem xét kết hợp với thử nghiệm cảm quan trực tiếp cũng như xác định màu sắc chính xác cho từng điều kiện.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến chất lượng cảm quan của người tiêu dùng đối với sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn

Kết quả hình 3 cho thấy, cảm quan của người tiêu dùng đối với sản phẩm thịt vịt sấy giòn chịu ảnh hưởng rõ rệt bởi nhiệt độ và thời gian sấy. Các chỉ tiêu được đánh giá bao gồm: Mùi, vị, màu sắc và cấu trúc; với thang điểm từ 0 - 5. Nhìn chung, các điều kiện sấy ở 70 trong 80°C trong thời gian 4 - 5 giờ mang lại điểm cảm quan cao hơn so với điều kiện sấy ở 60°C.



Hình 3. Chất lượng cảm quan của sản phẩm

Về mùi, mùi thơm đặc trưng đạt giá trị cao nhất ở điều kiện nhiệt độ sấy 70°C trong 4 giờ (4,8 điểm), trong khi mẫu được sấy ở 60°C trong 3 giờ chỉ đạt 3,3 điểm. Sự khác biệt này có thể liên quan đến quá trình phản ứng Maillard ở nhiệt độ phù hợp, tạo ra các hợp chất thơm như: Pyrazines và aldehydes [16, 18]. Tuy nhiên, ở nhiệt độ sấy 80°C trong 5 giờ, điểm mùi bắt đầu giảm (4,2) có thể do mùi bị giảm hoặc xuất hiện mùi cháy nhẹ khi nhiệt độ sấy tăng, tương tự theo nghiên cứu của Yang và cs (2009) [19].

Về vị, chỉ tiêu này được đánh giá cao nhất khi sấy sản phẩm ở 70°C trong 4 giờ (4,5 điểm). Điều kiện sấy này cho thấy sự cân bằng giữa mặn và ngọt một cách hài hòa. Ở nhiệt độ thấp (60°C), điểm vị chỉ dao động từ 3,1 - 3,9. Theo Arora và cs (2021) [20], việc sấy thịt ở nhiệt độ thấp có thể giữ

nước nhiều, làm loãng hương vị. Mặt khác, khi sấy nhiệt độ cao thể một số phản ứng hóa học diễn ra tạo ra những hợp chất mới làm thay đổi vị của sản phẩm như phản ứng caramel.

Về màu, màu sắc cũng đạt điểm cao nhất ở nhiệt độ sấy 70°C trong 4 giờ (4,9 điểm) vì mô tả rõ nét màu nâu đỏ đặc trưng cho sản phẩm, được người tiêu dùng ưa thích. Ở các mức nhiệt độ sấy thấp hơn và thời gian sấy ngắn (60°C, 3 giờ), điểm màu thấp hơn (3,4 điểm), chưa đủ hấp dẫn người dùng. Ngược lại, mẫu được sấy ở nhiệt độ cao trong thời gian dài (80°C, 5 giờ) cũng có điểm màu thấp (4,0 điểm), do xuất hiện hiện tượng màu sậm quá mức hoặc ngả sang màu sắc đặc trưng khi bị cháy khét [21].

Về cấu trúc, sản phẩm được cảm nhận tốt nhất khi được sấy ở 70°C trong 4 giờ (4,7 điểm) ứng với đặc tính là giòn, cứng vừa phải, không gãy vụn. Các mẫu sấy ở 60°C hoặc 70°C trong 3 giờ có điểm cấu trúc thấp hơn (3,0 - 3,6), do sản phẩm chưa đủ khô, tạo cảm giác mềm, không giòn. Khi sấy sản

phẩm ở nhiệt độ 80°C trong 5 giờ, điểm cấu trúc cũng giảm nhẹ, do sản phẩm quá khô và dễ gãy vụn.

Vậy việc sử dụng nhiệt độ 70°C và sấy trong thời gian 4 giờ giúp đạt điểm cảm quan là cao nhất ở cả bốn tiêu chí về mùi: (4,8), vị (4,5), màu (4,9) và cấu trúc (4,7). Đây là nhiệt độ và thời gian sấy tốt nhất được chọn.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến màu sắc của sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn

Đối với sản phẩm sấy, màu sắc là một trong những chỉ tiêu quan trọng phản ánh quá trình biến đổi hóa học và vật lý trong quá trình chế biến. Kết quả về sự thay đổi màu trong nghiên cứu này được thể hiện ở bảng 1. Trong đó, các giá trị màu L^* (độ sáng), a^* (mức độ đỏ) và b^* (mức độ vàng) được sử dụng để đánh giá mức độ ảnh hưởng của điều kiện sấy đến màu sắc của thịt vịt sấy giòn.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến các giá trị màu sắc của sản phẩm

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	L^*	a^*	b^*	ΔE
60	3	41,00 ± 0,94 ^a	6,14 ± 2,20 ^{ab}	14,75 ± 0,56 ^a	13,88 ± 0,78 ^a
60	4	40,16 ± 1,93 ^{ab}	6,68 ± 2,43 ^{ab}	14,93 ± 1,37 ^a	13,36 ± 1,12 ^a
60	5	37,72 ± 5,94 ^{abc}	7,51 ± 2,31 ^{ab}	12,26 ± 7,62 ^{ab}	12,43 ± 3,61 ^{ab}
70	3	34,29 ± 0,77 ^{bcd}	8,32 ± 0,15 ^a	13,95 ± 0,51 ^a	8,01 ± 0,81 ^c
70	4	28,58 ± 0,53 ^{de}	6,00 ± 0,29 ^{ab}	8,85 ± 0,39 ^{ab}	
70	5	35,38 ± 0,23 ^{abc}	8,68 ± 0,29 ^a	14,83 ± 0,09 ^a	9,45 ± 0,26 ^{bc}
80	3	33,91 ± 0,77 ^{cd}	6,62 ± 0,68 ^{ab}	11,12 ± 0,28 ^{ab}	5,87 ± 0,53 ^{cd}
80	4	37,19 ± 0,68 ^{abc}	7,04 ± 0,30 ^{ab}	10,51 ± 1,29 ^{ab}	8,91 ± 0,39 ^{bc}
80	5	26,74 ± 0,22 ^e	4,19 ± 0,38 ^b	5,86 ± 0,030 ^b	3,96 ± 0,11 ^d

Ghi chú: Các chữ khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05 theo phép kiểm định LSD. Các giá trị màu của nghiệm thức nhiệt độ sấy (70°C) và thời gian sấy là 4 giờ được sử dụng làm tiêu chuẩn để so sánh sự khác biệt về màu sắc của các nghiệm thức còn lại và ΔE được tính theo công thức chênh lệch màu CIE76.

Độ sáng (L^*) của sản phẩm sấy được trình bày ở bảng 1 cho thấy, có xu hướng giảm mạnh khi nhiệt độ và thời gian sấy tăng. Việc này phản ánh hiện tượng sản phẩm trở nên sẫm màu hơn. Mẫu có độ sáng cao nhất khi được sấy ở nhiệt độ 60°C trong 3 giờ (41,00), trong khi thấp nhất ở 80°C trong 5 giờ (26,74). Điều này có thể được giải thích

do quá trình phản ứng Maillard và Caramel hóa xảy ra mạnh mẽ hơn ở nhiệt độ cao và thời gian dài, dẫn đến sự hình thành các sắc tố nâu [22]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs (2006) [23], khi sấy thịt heo ở 70 - 80°C, giá trị L^* giảm tương ứng, tạo ra sản phẩm có màu sẫm nâu đặc trưng cho snack thịt heo.

Giá trị a^* của sản phẩm dao động từ 4,19 - 8,68. Trong đó, mẫu sấy ở 70°C trong 5 giờ đạt giá trị a^* cao nhất (8,68) cho thấy, sự tăng cường sắc đỏ do sự biến tính của protein cùng với sự oxy hóa lipid. Ngược lại, mẫu sấy ở 80°C trong 5 giờ có giá trị a^* thấp nhất (4,19), chứng tỏ tại nhiệt độ quá cao, một phần sắc tố có thể bị phá hủy dẫn đến giảm sắc đỏ của sản phẩm [21].

Giá trị b^* thể hiện mức độ vàng của sản phẩm cũng có xu hướng giảm ở các điều kiện nhiệt cao và thời gian kéo dài. Mẫu được sấy ở nhiệt độ 60°C trong 3 giờ có b^* cao nhất (14,75), trong khi mẫu 80°C trong 5 giờ chỉ đạt 5,86. Điều này chứng tỏ sự ảnh hưởng rõ rệt của quá trình oxy hóa và phản ứng hóa học lên sắc tố thịt. Tương tự với nghiên cứu của Gómez và cs (2020) [24] về biến đổi màu sắc trong quá trình sấy thịt gà; khi quá trình gia nhiệt kéo dài màu vàng tự nhiên của sản phẩm bị giảm đi rõ rệt do sự phân hủy của myoglobin và các hợp chất chứa nitơ.

Ngoài ra, sự khác biệt màu sắc tổng thể (ΔE) (Bảng 1) so với mẫu chuẩn được sấy ở 70°C trong 4 giờ cho thấy rằng các điều kiện sấy về nhiệt độ và thời gian lần lượt ở 60°C trong 3 giờ và 80°C trong 5 giờ có ΔE cao nhất; chứng tỏ có sự khác biệt màu lớn nhất so với mẫu được đánh giá là tối ưu về màu khi đánh giá cảm quan với kết quả ở hình 3, có điều kiện nhiệt độ là 70°C sấy trong 4 giờ. Điều này phản ánh rằng các điều kiện sấy quá nhẹ hoặc quá mạnh đều dẫn đến màu sắc khác biệt lớn so với mức màu được cảm nhận tốt nhất.

Dựa trên các chỉ tiêu L^* , a^* , b^* và ΔE , điều kiện sấy ở 70°C trong 4 giờ cho màu sắc hài hòa nhất và được xem xét chọn vì thể hiện sự cân bằng tốt giữa độ sậm màu và độ hấp dẫn cảm quan (Hình 3). Ở điều kiện nhiệt độ 80°C trong 5 giờ tuy đạt độ khô tốt nhưng làm màu quá tối và mất sắc tố, trong khi ở 60°C trong 3 giờ giữ màu sáng nhưng không đạt được màu đỏ nâu đặc trưng của sản phẩm sấy giòn.

3.4. Chất lượng của sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn

Kết quả phân tích từ bảng 2 cho thấy, hàm lượng protein trong sản phẩm thịt vịt sấy giòn đạt 60,86 g/100 g, trong khi hàm lượng lipid là 5,07

g/100 g. Hàm lượng protein phản ánh giá trị dinh dưỡng và là chỉ tiêu mong muốn trong các sản phẩm thịt sấy. Theo Lawrie và Ledward (2006) [25], trong điều kiện sấy nhiệt, sự mất nước làm gia tăng tỷ lệ các chất rắn, đặc biệt là protein. So sánh với nghiên cứu của Chaudhry và cs (2011) [26] trên sản phẩm thịt gà sấy ở 60°C trong 8 giờ, hàm lượng protein đạt khoảng 57 - 59 g/100 g cho thấy, kết quả của sản phẩm vịt sấy trong nghiên cứu này là phù hợp và có phần cao hơn.

Bảng 2. Chất lượng của sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn

Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị tính	Hàm lượng
Protein ^(*)	g/100 g	60,86
Lipid ^(*)	g/100 g	5,07
Peroxide ^(*)	%	0,0022
NH ₃ ^(*)	mgNH ₃ /100 g	26
Vi sinh vật hiếu khí ^(*)	CFU/g	2,8 x 10 ³
<i>E. coli</i> ^(*)	CFU/g	< 10
<i>Salmonella</i> spp ^(*)	Vi khuẩn/25 g	ND

Ghi chú: () Kết quả được kiểm tại Trung tâm Chất lượng, chế biến và Phát triển thị trường vùng 6.*

Hàm lượng lipid (Bảng 2) của sản phẩm được xác định là 5,07 g/100 g, tương đối thấp so với các loại thịt chế biến khác như thịt heo sấy hoặc bò khô (thường từ 8 - 12 g/100 g) [27]. Kết quả này phù hợp với xu hướng sản phẩm thực phẩm ít béo nhằm đáp ứng nhu cầu người tiêu dùng hiện đại. Giá trị peroxide của sản phẩm là 0,0022% cho thấy, mức độ oxy hóa lipid rất thấp, phản ánh sản phẩm có độ tươi và ổn định tốt. Theo FAO/WHO (2019) [28], giá trị peroxide dưới 0,1% là chấp nhận được đối với sản phẩm thịt sấy. Hàm lượng NH₃ (amoniac) đạt 26 mg/100 g, thấp hơn ngưỡng 30 - 40 mg/100 g trong các nghiên cứu về thịt sấy được bảo quản trong 1 - 2 tuần [29]. Điều này phản ánh quá trình phân giải protein (sinh ra NH₃) chưa xảy ra mạnh, chứng minh sản phẩm đạt chất lượng tốt và chưa có hiện tượng hư hỏng do vi sinh vật hoặc enzyme nội sinh.

Ngoài ra, qua kết quả kiểm tra vi sinh (Bảng 2), tổng số vi sinh vật hiếu khí là $2,8 \times 10^3$ CFU/g, thấp hơn đáng kể ngưỡng cho phép theo QCVN 8-3:2012/BYT [30] đối với thịt và sản phẩm chế biến từ thịt phải qua xử lý nhiệt trước khi sử dụng (5×10^5 - 5×10^6 CFU/g). Vi khuẩn *E. coli* với kết quả < 10 CFU/g và *Salmonella* spp. (ND - không phát hiện/25 g) cho thấy, quy trình chế biến đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm. Nghiên cứu của Rahman và cs (2020) [31] trên thịt vịt sấy khô bằng sấy nhiệt đối lưu, nếu nhiệt độ dưới 70°C hoặc thời gian sấy quá ngắn thì thường vẫn tồn tại vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt là *Salmonella*. Do đó, quy trình sấy của sản phẩm (Hình 4) này được đánh giá là hiệu quả và an toàn.



Hình 4. Sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn

4. KẾT LUẬN

Quá trình nghiên cứu đã chọn được điều kiện tốt nhất về nhiệt độ sấy và thời gian sấy tạo sản phẩm thịt vịt tẩm gia vị sấy giòn lần lượt là 70°C và 4 giờ. Sản phẩm tạo thành có độ ẩm (9,17%), độ cứng (6,5 N), mùi thơm đặc trưng, vị hài hòa, màu nâu đỏ hơi sậm, giòn, cứng vừa phải. Sản phẩm có hàm lượng protein 60,86 g/100 g; lipid 5,07 g/100 g; chỉ số peroxide 0,0022% và NH_3 26 mg NH_3 /100 g. Chất lượng vi sinh vật trong giới hạn an toàn cho phép theo QCVN 8-3:2012/BYT. Sản phẩm phù hợp với xu hướng thực phẩm sấy khô hiện đại. Qua đó cho thấy, tiềm năng ứng dụng và thương mại hóa trong thị trường thực phẩm khô.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Hợp tác Kỹ thuật của Cơ quan Hợp tác Quốc tế Nhật Bản (JICA). Tác giả chân thành cảm ơn Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ đã hỗ trợ và tạo mọi điều kiện thuận lợi trong thời gian thực hiện nghiên

cứu và cảm ơn sự hỗ trợ của các em Nguyễn Hữu Tài, Sơn Thị Thùy Hương, Văn Tuấn Hiếu, Nguyễn Thị Hồng Gấm trong nhóm nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhaskar O. N., Patel N. P., Dhanani D. M. (2020). Effect of drying methods on value added duck meat balls. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(3), 1534 - 1539.
2. Kim H. W., Hwang K. E., Song D. H. (2021). Novel processing technologies for improving quality and storage stability of dried meat products. *Meat Science*, 174, 108402. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108402>
3. Kurniawan A., Lestari P., Anam C. (2023). Improving the quality of sweet duck jerky from South Kalimantan with antioxidant-rich spices. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 1(1), 27 - 33.
4. Nguyễn Thị Kim Oanh, Phạm Quốc Cường (2019). Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến chất lượng thịt heo sấy. *Tạp chí Công nghiệp Thực phẩm*, 19(4), 78 - 83.
5. Koca, N. & Metin, M. (2004). Textural properties of whole and minced cooked turkey breast meat. *Journal of Texture Studies*, 35(4), 417 - 428. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2004.tb00751.x>
6. Umi S, Bintoro V. P., Atmomarsono U., Pramono Y. B., Legowo A. M. (2014). Antioxidant activity of Indonesian endogenous duck meat marinated in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extract. *International Journal of Poultry Science*, 13(2), 102 - 107. doi:10.3923/ijps.2014.102.107
7. Lu, Y., He, J., Cao, J., Dang, Y., Sun, Y., Pan, D. (2021). Effect of fermentation by various bacterial strains on quality of dried duck meat slice. *International Journal of Food Engineering*, 17(2), 121 - 129.
8. Peng Y., Guo X., Ahmed Jamali M., Zhang Y. (2020). Coupling of water activity and colour development of roast duck skin under forced convection drying. *Processes*, 8(9), 1165.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan - phương pháp cho điểm.
10. Mujumdar A. S. (2014). *Handbook of Industrial Drying*. CRC Press.
11. Nguyen H. T., et al. (2020). Optimization of pork jerky drying using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(2), e14328.
12. Choi, Y. S., Ku, S. K., Park, J. D., Kim, H. J., Jang, A., Kim, Y. B. (2015). Effects of Drying Condition and Binding Agent on the Quality Characteristics of Ground Dried-Pork Meat Products. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(5), 597 - 603.
13. Tang Z., Wang L., Wu Y. (2021). Effect of drying methods on protein structure and quality of dried meat. *Food Chemistry*, 343, 128529.
14. Lewicki P. P. (2006). Design of hot air drying for better foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17(4), 153 - 163.
15. Zhang M., Tang J., Mujumdar A. S., Wang S. (2017). Trends in microwave-related drying of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 524 - 534.
16. Rahman M. S. (2009). *Food Properties Handbook*. CRC Press.
17. Pham T. H., et al. (2022). Effects of hot air drying conditions on quality of chicken jerky. *Vietnam Journal of Food Science and Technology*, 18(1), 44 - 52.
18. Fellows P. J. (2009). *Food Processing Technology: Principles and Practice* (3rd ed.). Woodhead Publishing.
19. Yang, H. S., Kang, S. W., Jeong, J. Y., Chun, J. Y., Joo, S. T., Park, G. B., Choi, S. G. (2009). Optimization of drying temperature and time for pork jerky using response surface methodology. *Food science and biotechnology*, 18(4), 985 - 990.
20. Arora A., Sharma P., Sehgal V. K. (2021). Effect of hot air drying parameters on textural and sensory attributes of meat products: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 44(5), e13738.
21. Demiray, E., Ergezer, H., Özünlü, O., Gökçe, R. (2022). Influence of hot-air drying on drying kinetics and some quality parameters of sliced chicken breast meat. DOI:10.21203/rs.3.rs-1596759/v1
22. Fellows P. J. (2009). *Food Processing Technology: Principles and Practice* (3rd ed.). Woodhead Publishing.
23. Zhang, M., Tang, J., Mujumdar, A. S., Wang, S. (2006). Trends in microwave-related drying of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 524 - 534.
24. Gómez, I., Janardhanan, R., Ibañez, F. C., Beriain, M. J. (2020). The effects of processing and preservation technologies on meat quality: Sensory and nutritional aspects. *Foods*, 9(10), 1416.
25. Lawrie R. A., Ledward D. A. (2006). *Lawrie's Meat Science* (7th ed.). Woodhead Publishing.
26. Chaudhry A. S., Mohamed R., Khan M. A. (2011). Effect of different drying temperatures on physicochemical characteristics of chicken meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(4), 447 - 456. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2010.00493.x>
27. Chen X., Yang Y., Zhou G., Xu X. (2021). Lipid and fatty acid profiles of traditional dried meat products: A review. *Food Chemistry*, 343, 128527.
28. FAO/WHO. (2019). *Codex Alimentarius: General standard for contaminants and toxins in food and feed*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization.
29. Guo J., Luo Y., Wang Y., Li C. (2016). Ammonia content and spoilage characteristics of vacuum-packaged cooked meat during storage. *Journal of Food Protection*, 79(4), 649 - 654.
30. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 8-3:2012/BYT. Đối với ô nhiễm vi sinh vật trong thực phẩm.
31. Rahman M. M., Hashem M. A., Hossain M. M. (2020). Quality and safety of duck meat

jerky as influenced by different drying methods. *Research*, 7(1), 107 - 113. <https://doi.org/Journal of Advanced Veterinary and Animal> 10.5455/javar.2020.g384

STUDY ON THE EFFECTS OF TEMPERATURE AND DRYING TIME IN THERMAL DRYING ON THE QUALITY OF CRISPY SPICED DRIED DUCK MEAT

Nguyen Hong Xuan¹, Nguyen Thi Kieu Diem²,

Tran Bach Long³, Nguyen Trong Ngu⁴

¹ Faculty of Biochemical and Food Technology, Can Tho University of Technology

² Faculty of Technology and Fisheries, Can Tho Technical Economic College

³ Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

⁴ College of Agriculture, Can Tho University

Abstract

To investigate suitable drying conditions for the production of crispy spiced duck meat, the experiment was conducted at temperatures of 60, 70, 80°C with drying durations of 3, 4, 5 hours. The quality of the samples was evaluated based on indicators such as hardness, moisture content, colorimetric parameters, and sensory attributes including aroma, taste, color, and texture. The final product quality was determined through nutritional composition, physicochemical properties, and microbiological criteria. The most appropriate drying condition was identified as 70°C for 4 hours. Under this condition, the product had a moisture content of 9.17%; hardness of 6.5 N; L^* value of 28.58; a^* value of 6; and b^* value of 8.85; the four sensory attributes achieved the highest scores, corresponding to a characteristic aroma, a balanced salty-sweet flavor, a slightly dark reddish-brown color, a crispy yet firm texture without crumbling. In addition, the product showed good quality with a protein content of 60.86 g/100 g, lipid content of 5.07 g/100 g, peroxide value of 0.0022%, NH_3 content of 26 mg NH_3 /100 g. The microbial quality met the permissible safety limits according to QCVN 8-3:2012/BYT. These results indicate the potential for application and commercialization of dried duck meat in the dried food market.

Keywords: *Color, crispy drying, dried duck meat, marinated, texture, thermal drying.*

Ngày nhận bài: 17/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 28/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 3/7/2025

Ngày duyệt đăng: 30/7/2025

NGHIÊN CỨU THU NHẬN CAO CHIẾT GIÀU HOẠT CHẤT SINH HỌC TỪ VỎ QUẾ, ỨNG DỤNG CHO SẢN XUẤT SẢN PHẨM HƯƠNG LIỆU KHỬ MÙI

Bùi Thị Bích Ngọc^{1,*}, Bùi Quang Thuật¹

¹ Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công Thương

* Email: ngocbtb@firi.vn

TÓM TẮT

Trong vỏ quế ngoài tinh dầu - thành phần quan trọng và có giá trị nhất còn chứa một lượng đáng kể các hoạt chất polyphenol, nhóm hoạt chất tự nhiên này có đặc tính chống oxy hóa, kháng vi sinh vật, kháng viêm và nhiều tác dụng sinh học khác. Sự kết hợp hai nhóm hoạt chất tinh dầu và polyphenol trong cao chiết thu nhận từ vỏ quế làm tăng mạnh khả năng chống oxy hóa, khử khuẩn, khử mùi... của cao chiết, mở ra tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong công nghệ sinh học và hóa học. Một trong những ứng dụng này tạo nên sản phẩm hương liệu khử mùi mới thuộc dòng sản phẩm có nguồn gốc từ tự nhiên rất phù hợp với xu hướng sử dụng hiện nay của người tiêu dùng. Trong bài báo này, nghiên cứu tập trung nghiên cứu công nghệ thu nhận cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế để tạo ra loại sản phẩm hương liệu khử mùi thân thiện, có hiệu quả khử mùi cao. Kết quả nghiên cứu, cho thấy đã xây dựng được quy trình công nghệ chiết xuất và làm giàu các hoạt chất sinh học từ vỏ quế tại tỉnh Lạng Sơn bằng ethanol 95% và các thông số công nghệ: Nguyên liệu có độ ẩm: 8 - 9%; kích thước $0,5\text{ mm} < d \leq 1\text{ mm}$; số lần trích ly 2 lần; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: 1/12 (lần 1: 1/7, lần 2: 1/5); nhiệt độ trích ly: 60°C; thời gian trích ly khoảng 9 giờ (lần 1: 5 giờ, lần 2: 4 giờ). Với công nghệ này hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng đạt 91,7 - 92,5%. Sản phẩm cao chiết thô được tinh sạch bằng phương pháp trích ly lại với hệ dung môi ethyl acetate/nước (1: 1) sẽ cho sản phẩm cao chiết giàu hoạt chất sinh học với hàm lượng tinh dầu và polyphenol tổng rất cao lần lượt đạt 477,8 và 182,9 mg/g, hàm lượng thành phần chính trans-cinnamaldehyde trong tinh dầu cũng rất cao (92,18%). Sản phẩm cao chiết sau tinh sạch đã được thử nghiệm sản xuất hương liệu khử mùi, kết quả thử nghiệm cho thấy, sản phẩm hương liệu khử mùi với thành phần chính là cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế có mùi thơm dễ chịu, hài hòa và có hiệu quả khử mùi đạt 97,3%.

Từ khóa: *Vỏ quế, hoạt chất sinh học, tinh dầu, polyphenol, sản phẩm hương liệu khử mùi, cao chiết.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các loài cây lâm sản ngoài gỗ của rừng nhiệt đới Việt Nam, cây quế có thể tổ chức sản xuất thành nguồn hàng lớn, ổn định, lâu dài và có giá trị, nhất là giá trị xuất khẩu. Những năm gần đây, ngành nuôi trồng và sản xuất quế ở nước ta phát triển mạnh mẽ, Việt Nam trở thành nước sản xuất và xuất khẩu quế đứng thứ ba thế giới [1]. Trước đây, khi nói đến cây quế là gắn với tinh dầu quế, thành phần quan trọng và có giá trị nhất của cây quế. Nhờ đặc tính quý hiếm về hương vị của tinh dầu quế mà cây quế là loại cây gia vị phổ biến

và được ưa chuộng trên khắp thế giới. Quế là một trong những nguyên liệu chính tạo nên loại gia vị “ngũ vị hương” nổi tiếng và được rất nhiều người tin dùng. Nhờ những đặc tính sinh học của tinh dầu quế mà vỏ quế là loại thảo dược được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân gian. Thời gian gần đây, người tiêu dùng chuyển hướng quan tâm nhiều đến nhóm hoạt chất polyphenol với hàm lượng không nhỏ trong vỏ quế (1 - 4% trọng lượng khô). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các hợp chất polyphenol trong vỏ quế không chỉ có khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn cao, hỗ trợ chữa

bệnh mà còn có khả năng khử mùi hôi trong không khí thông qua nhiều cơ chế hóa học và sinh học [2, 3]. Đặc biệt, khi có sự kết hợp hai nhóm hoạt chất tinh dầu và polyphenol trong cao chiết thu nhận từ vỏ quế sẽ làm tăng mạnh khả năng chống oxy hóa, khử khuẩn, khử mùi... của cao chiết, mở ra tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong công nghệ sinh học và hóa học. Abeysekera và cs đã sử dụng hệ dung môi dicloromethane: methanol (1: 1) và ethanol để thu nhận cao chiết giàu hoạt chất chống oxy hóa từ lá và vỏ quế ceylon [4]. Kết quả cho thấy, cao chiết được chiết xuất bằng ethanol từ cả lá và vỏ cây cho hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng chống oxy hóa (DPPH, ABTS) cao hơn so với cao chiết được chiết xuất bằng dicloromethane: methanol. Một nghiên cứu khác của Nguyễn Thị Kiều Diễm đã thu nhận cao chiết từ vỏ quế bằng cách chiết nóng với ethanol, hàm lượng polyphenol tổng đạt tới 263,41 mgGAE/g cao khô [5]. Khả năng kháng oxy hóa (IC_{50}) của cao chiết này được nâng cao khi được chuyển dưới dạng nano với lecithin (tỉ lệ 1: 1). Từ các kết quả nghiên cứu này, một hướng mới được tập trung nghiên cứu, đó là thu nhận cao chiết từ vỏ quế chứa đồng thời hai thành phần quan trọng, giá trị nhất - tinh dầu và polyphenol ứng dụng để tạo nên các sản phẩm thực phẩm, dược phẩm và hóa mỹ phẩm (trong đó có sản phẩm hương liệu khử mùi).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Vỏ quế vụn được thu mua tại 4 vùng nguyên liệu lớn nhất tại các tỉnh miền núi phía Bắc, Việt Nam (Yên Bái, Lào Cai, Lạng Sơn và Quảng Ninh), vào thời điểm tháng 02/2025.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất các hoạt chất sinh học

Quá trình chiết xuất các hoạt chất sinh học từ vỏ quế được thực hiện trong bộ trích ly có bộ phận khuấy trộn, ở nhiệt độ nhất định. Các thí nghiệm được tiến hành với 100 g nguyên liệu đã được xử lý đến độ ẩm và kích thước nhất định. Sau thời gian trích ly với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi nhất định, dịch trích ly được tách ra khỏi bã, rồi cô kiệt dung

môi bằng thiết bị cô quay chân không đến trọng lượng không đổi sẽ thu được cao chiết. Sau đó, tiến hành xác định hàm lượng tinh dầu và hàm lượng polyphenol tổng có trong cao chiết. Hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng được tính bằng % lượng tinh dầu (hay polyphenol tổng) thu được từ cao chiết so với lượng tinh dầu (hay polyphenol tổng) tính theo lý thuyết có trong mẫu thí nghiệm hay tính theo khối lượng khô của nguyên liệu. Mỗi mẫu thí nghiệm được lặp lại 3 lần và xử lý số liệu bằng chương trình phần mềm Microsoft excel và IRRISTAT 4.0.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình trích ly, dựa trên nguyên tắc: Khi nghiên cứu ảnh hưởng của một yếu tố nhất định thì các thí nghiệm đều được tiến hành ở cùng các điều kiện công nghệ (trừ yếu tố đang được khảo sát). Sau khi chọn được giá trị thích hợp của các yếu tố đã được nghiên cứu thì các giá trị đó được cố định trong các thí nghiệm tiếp theo để khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố còn lại. Việc lựa chọn các giá trị thích hợp của các yếu tố công nghệ dựa vào hiệu suất trích ly tinh dầu và hiệu suất trích ly polyphenol, chất lượng cao chiết và hiệu quả kinh tế.

2.2.2. Các phương pháp phân tích

- Xác định độ ẩm (trong nguyên liệu và cao chiết) bằng phương pháp chưng cất với toluen [6].

- Xác định hàm lượng tinh dầu (trong nguyên liệu và cao chiết) bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước (trên thiết bị xác định hàm lượng tinh dầu nặng kiểu Clevenger) [7].

- Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (trong nguyên liệu và cao chiết): được xác định theo mô tả của Yadav và Agarwal (2011) [8].

- Xác định các hợp chất thơm dễ bay hơi trong cao chiết vỏ quế: Được thực hiện bằng phương pháp sắc kí khí nối ghép khối phổ GC-MS, theo TCCS: FIRI.M.227 (GC/MS) [9].

- Xác định các chỉ tiêu an toàn thực phẩm về kim loại nặng, vi sinh, tổng dư lượng thuốc bảo vệ thực vật theo TCVN hiện hành.

- Đánh giá hiệu quả khử mùi của sản phẩm hương liệu khử mùi: Được thực hiện bởi Hội đồng đánh giá gồm 8 thành viên và dựa trên hai chỉ tiêu

là: Hiệu quả khử mùi và chất lượng cảm quan của mùi sản phẩm. Về đánh giá hiệu quả khử mùi được mô phỏng theo, ISO 16000-28:2020 và ASTM E544-18 [10, 11]. Cách tiến hành như sau:

Đặt nguồn mùi (vải đã được tẩm dung dịch amoniac và H₂S, tạo mùi hôi thối rõ rệt) vào hộp nhựa có nắp kín (dung tích 8 lít), có lỗ nhỏ để xịt hương liệu khử mùi vào hộp, rồi để yên 10 phút. Tiếp đó, từng thành viên Hội đồng ngữ mùi hôi thối trong hộp để cho điểm đánh giá mùi hôi thối ban đầu (trước xử lý), rồi đóng nắp hộp lại. Ngay sau đó, xịt sản phẩm hương liệu khử mùi vào hộp (5 lần nhấn nút xịt) và đợi khoảng 10 phút để hương liệu có đủ thời gian khử mùi. Tiếp đó, từng thành viên Hội đồng ngữ mùi trong hộp để cho điểm đánh giá mùi trong hộp sau xử lý khử mùi. Lưu ý, các thành viên đánh giá một cách độc lập, khách quan và ghi điểm trước và sau xử lý khử mùi. Thang điểm đánh giá từ 0 - 5 điểm.

Hiệu quả khử mùi được tính theo công thức như sau:

$$HQ (\%) = \frac{ĐTXL - ĐSXL}{ĐSXL} \cdot 100\%$$

Trong đó: HQ là hiệu quả khử mùi, %; ĐTXL là điểm trung bình của Hội đồng trước khi xử lý; ĐSXL là điểm trung bình của Hội đồng sau khi xử lý khử mùi.

Về đánh giá chất lượng cảm quan của mùi sản phẩm hương liệu khử mùi được mô phỏng từ TCVN 3215-79 về phân tích cảm quan sản phẩm thực phẩm [12]. Theo đó, đánh giá chất lượng cảm quan của mùi sản phẩm theo thang điểm từ 0 - 5 điểm. Trong 02 chỉ tiêu đánh giá, chỉ tiêu hiệu quả khử mùi được coi trọng hơn.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích, đánh giá và lựa chọn nguyên liệu vỏ quế

Trong nguyên liệu vỏ quế, hai nhóm hoạt chất sinh học quan trọng và có giá trị nhất cũng như có tác dụng khử mùi, kháng khuẩn cao nhất là tinh dầu và các hợp chất polyphenol. Với mục đích thu nhận các hoạt chất sinh học từ vỏ quế để ứng dụng cho sản xuất hương liệu khử mùi, việc đánh giá và lựa chọn nguyên liệu sẽ dựa vào hàm lượng của tinh dầu và polyphenol tổng có trong nguyên liệu vỏ quế. Nghiên cứu đã tiến hành xác định hàm lượng của hai thành phần quan trọng này trong mẫu vỏ quế vụn được thu thập từ 04 vùng nguyên liệu lớn nhất tại các tỉnh miền núi phía Bắc, Việt Nam (Yên Bái, Lào Cai, Lạng Sơn và Quảng Ninh). Mẫu nguyên liệu được lấy ngẫu nhiên trên thị trường. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng các hoạt chất sinh học trong vỏ quế tại các vùng nguyên liệu

Nguyên liệu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng (tính theo chất khô), %	
		Tinh dầu	Polyphenol tổng
Quế tỉnh Lào Cai	12,5 ± 0,2	3,70 ± 0,11	1,88 ± 0,08
Quế tỉnh Quảng Ninh	13,0 ± 0,3	4,07 ± 0,14	1,82 ± 0,07
Quế tỉnh Lạng Sơn	12,5 ± 0,4	4,71 ± 0,18	1,77 ± 0,05
Quế tỉnh Yên Bái	12,0 ± 0,3	4,29 ± 0,15	1,71 ± 0,06

Kết quả phân tích tại bảng 1 cho thấy, hàm lượng tinh dầu tại các mẫu quế có sự khác biệt lớn, cao nhất có trong mẫu nguyên liệu vỏ quế tại tỉnh Lạng Sơn và thấp nhất là mẫu quế tại tỉnh Lào Cai. Về hàm lượng polyphenol, không có sự chênh lệch lớn giữa các mẫu, vùng nguyên liệu có hàm lượng cao nhất là mẫu tỉnh Lào Cai và thấp nhất là mẫu tỉnh Yên Bái. Xét tổng thể cả hai tiêu chí hàm lượng tinh dầu và polyphenol tổng, mẫu nguyên liệu thích hợp cho mục đích thu nhận các hoạt

chất sinh học từ vỏ quế là mẫu vỏ quế tỉnh Lạng Sơn.

3.2. Nghiên cứu chế độ xử lý nguyên liệu trước khi trích ly

Quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ nguyên liệu thực vật thực chất là quá trình khuếch tán chất hòa tan từ nguyên liệu vào dung môi trích ly. Do vậy, để quá trình trích ly diễn ra thuận lợi, nguyên liệu và dung môi cần dễ dàng tiếp xúc lẫn nhau, dung môi dễ dàng thẩm thấu vào nguyên liệu và ngược lại hoạt chất sinh học dễ dàng hòa

tan trong dung môi. Vì lý do đó, nguyên liệu thực vật trước khi trích ly cần được xử lý sao cho quá trình trích ly các hoạt chất diễn ra thuận lợi nhất. Trong thực tế, để xử lý nguyên liệu trước trích ly người ta thường quan tâm đến hai chỉ tiêu quan trọng là độ ẩm và kích thước nguyên liệu. Do vậy, đối với từng loại nguyên liệu thực vật cần lựa chọn được độ ẩm và kích thước nguyên liệu thích hợp cho quá trình trích ly hoạt chất. Qua khảo sát, độ ẩm và kích thước nguyên liệu thích hợp được xác định lần lượt là: 8 - 9% và $0,5 \text{ mm} < d \leq 1,0 \text{ mm}$.

3.3. Nghiên cứu công nghệ thu nhận cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế

3.3.1. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp trích ly

Bảng 2. Ảnh hưởng của các phương pháp trích ly các hoạt chất sinh học từ vỏ quế

Phương pháp trích ly	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
Tĩnh	$3,331 \pm 0,025$	$70,73 \pm 0,53$	$1,254 \pm 0,009$	$70,86 \pm 0,51$
Động	$4,114 \pm 0,032$	$87,34 \pm 0,68$	$1,525 \pm 0,011$	$86,17 \pm 0,62$
Hồi lưu	$4,100 \pm 0,029$	$87,05 \pm 0,61$	$1,513 \pm 0,010$	$85,49 \pm 0,56$

Kết quả nhận được tại bảng 2 cho thấy, phương pháp trích ly tĩnh có hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng thấp hơn hẳn so với hai phương pháp còn lại. Điều này chứng tỏ sự đảo trộn nguyên liệu, dung môi và trích ly ở nhiệt độ cao đã làm tăng mạnh hiệu suất trích ly các hoạt chất sinh học. Trích ly động và trích ly hồi lưu cho hiệu suất trích ly chênh lệch nhau không đáng kể,

Trong thực tế sản xuất và nghiên cứu, đã sử dụng rất nhiều phương pháp trích ly cho việc thu nhận các hoạt chất sinh học từ thực vật. Mỗi phương pháp trích ly có ưu, nhược điểm nhất định và có ảnh hưởng rất lớn tới hiệu suất thu nhận và chất lượng sản phẩm cao chiết. Do vậy, đối với mỗi loại nguyên thực vật cần lựa chọn được phương pháp trích ly thích hợp. Trong nghiên cứu này, các phương pháp trích ly được lựa chọn khảo sát là: Trích ly tĩnh (ngâm chiết), trích ly động (có khuấy trộn nguyên liệu), trích ly hồi lưu (reflux - trích ly tại nhiệt độ sôi của dung môi với sinh hàn hồi lưu). Kết quả được trình bày trong bảng 2.

tuy nhiên, trích ly hồi lưu được thực hiện ở nhiệt độ cao (khoảng 80°C) đã gây ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng cao chiết. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu thu nhận các hoạt chất sinh học từ thực vật trong và ngoài nước.

3.3.2. Nghiên cứu lựa chọn dung môi trích ly thích hợp

Bảng 3. Ảnh hưởng của loại dung môi đến quá trình trích ly vỏ quế

Dung môi trích ly	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
Ethyl acetate	$4,193 \pm 0,036$	$89,03 \pm 0,76$	$1,393 \pm 0,010$	$78,68 \pm 0,56$
Methanol	$4,155 \pm 0,035$	$88,21 \pm 0,74$	$1,539 \pm 0,012$	$86,95 \pm 0,68$
n-Hexane	$4,227 \pm 0,041$	$89,75 \pm 0,87$	$0,772 \pm 0,007$	$43,59 \pm 0,40$
Ethanol 95%	$4,114 \pm 0,032$	$87,34 \pm 0,68$	$1,525 \pm 0,011$	$86,17 \pm 0,62$
Ethanol 80%	$3,681 \pm 0,028$	$78,16 \pm 0,59$	$1,494 \pm 0,009$	$84,42 \pm 0,51$

Dung môi trích ly giữ vai trò rất quan trọng trong quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ thực vật có ảnh hưởng quyết định đến hiệu suất trích ly và chất lượng của cao chiết. Tiêu chí cho việc lựa chọn dung môi là tính hòa tan chọn lọc nghĩa là dung môi đó phải hòa tan tối đa các chất cần chiết xuất, đồng thời không hòa tan hoặc hòa tan ít nhất các chất không cần tách ra. Tiếp theo là các tiêu chí như: Tính an toàn, khả năng bay hơi, tính ổn định hóa học và chi phí kinh tế. Căn cứ theo lý thuyết về tính hòa tan và tài liệu tham khảo, các dung môi được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm này gồm: Methanol, ethyl acetate, n-hexane, ethanol 95% và ethanol 80%. Kết quả được thể hiện tại bảng 3.

Kết quả thu được tại bảng 3 cho thấy, đối với tinh dầu các dung môi vô cực như n-hexane hay ít phân cực như ethyl acetate cho hiệu suất trích ly cao hơn các dung môi phân cực như ethanol nhưng ở mức độ chênh lệch không nhiều. Trong khi đó, đối với hoạt chất polyphenol các dung môi phân cực lại chiếm ưu thế và có hiệu suất trích ly cao hơn nhiều, nhất là khi so với n-hexane. Với mục

đích thu nhận đồng thời tinh dầu và các hoạt chất polyphenol, dung môi ethyl acetate được xem là thích hợp nhất cho quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ vỏ quế. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Hong và cs (2011) [13] khi chiết xuất các hoạt chất phenolic từ cây tía tô (*Perilla frutescens* var. *acuta*).

3.3.3. Xác định các điều kiện công nghệ trích ly thích hợp

- Ảnh hưởng của số lần trích ly

Về mặt lý thuyết, khi số lần trích ly càng nhiều thì hiệu suất trích ly các hoạt chất càng tăng. Tuy nhiên, trong thực tế sản xuất, cần phải coi trọng và xem xét khía cạnh kinh tế (hay chi phí sản xuất) để sao cho có hiệu quả kinh tế cao nhất bởi số lần trích ly tăng lên dẫn đến chi phí cho dung môi, năng lượng và hiệu quả sử dụng thiết bị giảm đi. Do vậy, đối với mỗi quá trình trích ly, cần xác định được số lần trích ly thích hợp, cho hiệu quả cao nhất. Số lần trích ly được khảo sát ở thí nghiệm này là 1 lần, 2 lần và 3 lần. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến quá trình chiết xuất

Số lần trích ly (lần)	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
1	3,111 ± 0,023	66,06 ± 0,49	1,160 ± 0,008	65,52 ± 0,45
2	4,114 ± 0,032	87,34 ± 0,68	1,525 ± 0,011	86,17 ± 0,62
3	4,190 ± 0,029	88,97 ± 0,61	1,537 ± 0,013	86,83 ± 0,73

Bảng 4 cho thấy, số lần trích ly cho hiệu quả nhất là 2 lần trích ly vì trích ly 3 lần cho hiệu suất trích ly cao hơn không đáng kể so với 2 lần trích ly trong khi chi phí sản xuất thì cao hơn nhiều. Do vậy, trích ly vỏ quế 2 lần là thích hợp nhất.

- Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến quá trình trích ly

Như đã nêu ở trên, quá trình trích ly các hoạt chất từ nguyên liệu thực vật thực chất là quá trình khuếch tán hoạt chất từ nguyên liệu vào dung môi trích ly do có sự chênh lệch nồng độ chất hòa tan giữa nguyên liệu và dung môi trích ly. Khi lượng dung môi trích ly trên một đơn vị khối lượng càng

cao, sự chênh lệch nồng độ chất hòa tan càng lớn hay khả năng khuếch tán của hoạt chất vào dung môi càng lớn, dẫn đến hiệu suất trích ly càng tăng. Tuy nhiên, đến một mức độ nhất định, khi lượng dung môi sử dụng quá lớn mà hiệu suất trích ly tăng không đáng kể thì trích ly sẽ không hiệu quả do chi phí về dung môi, năng lượng và nhân công, hiệu suất sử dụng trang thiết bị thấp. Do vậy, đối với mỗi quá trình trích ly, mỗi loại nguyên liệu cần tiến hành khảo sát để xác định được tỉ lệ dung môi/nguyên liệu thích hợp cho hiệu quả trích ly cao nhất. Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi được khảo sát ở các mức là: 1/8, 1/10, 1/12, 1/14 và 1/16. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5 cho thấy, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp nhất là 1/12 (lần 1: 1/7; lần 2: 1/5) vì có tăng lượng dung môi trích ly lên nhưng hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng tăng không đáng kể nên xét hiệu quả kinh tế sẽ không có lợi.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến quá trình trích ly

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
1/8 (1/5; 1/3)	3,855 ± 0,027	81,85 ± 0,57	1,429 ± 0,009	80,76 ± 0,51
1/10 (1/6; 1/4)	4,114 ± 0,032	87,34 ± 0,68	1,525 ± 0,011	86,17 ± 0,62
1/12 (1/7; 1/5)	4,285 ± 0,035	90,98 ± 0,74	1,576 ± 0,012	89,02 ± 0,68
1/14 (1/8; 1/6)	4,304 ± 0,038	91,39 ± 0,81	1,583 ± 0,010	89,41 ± 0,56
1/16 (1/9; 1/7)	4,317 ± 0,034	91,66 ± 0,72	1,586 ± 0,014	89,62 ± 0,79

- *Ảnh hưởng của tốc độ khuấy trộn đến quá trình trích ly*

Trong nghiên cứu khảo sát về phương pháp trích ly ở trên đã cho thấy, sự vượt trội của phương pháp trích ly động (có khuấy trộn nguyên liệu) so với phương pháp trích ly tĩnh (ngâm chiết). Khi nguyên liệu và dung môi thường xuyên được đảo trộn sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khuếch tán tinh dầu, polyphenol trong nguyên liệu vào dung môi trích ly. Tuy nhiên, nếu tốc độ khuấy trộn quá cao lại gây ra những cản trở nhất định tới quá trình trích ly. Do đó, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tốc độ khuấy trộn nguyên liệu tới quá

trình trích ly cao chiết từ vỏ quế để tìm ra tốc độ khuấy trộn thích hợp. Các tốc độ khuấy trộn được khảo sát là 300 vòng/phút, 400 vòng/phút, 500 vòng/phút và 600 vòng/phút. Kết quả thí nghiệm được trình bày tại bảng 6. Kết quả ở bảng 6 cho thấy, tốc độ khuấy trộn nguyên liệu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng. Với tốc độ khuấy trộn 400 vòng/phút cho hiệu suất trích ly cao nhất. Khi tốc độ khuấy trộn cao hơn 400 vòng/ph, dịch trích ly rất khó lọc nên đã bị tổn thất phần nào hoạt chất trong quá trình lọc. Vì vậy, tốc độ khuấy trộn nguyên liệu là 400 vòng/phút là tốc độ phù hợp nhất.

Bảng 6. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy trộn đến quá trình trích ly

Tốc độ khuấy trộn (vòng/phút)	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
300	4,150 ± 0,031	88,12 ± 0,66	1,551 ± 0,009	87,63 ± 0,51
400	4,297 ± 0,033	91,24 ± 0,70	1,599 ± 0,010	90,35 ± 0,57
500	4,285 ± 0,035	90,98 ± 0,74	1,576 ± 0,012	89,02 ± 0,68
600	4,129 ± 0,029	89,57 ± 0,63	1,559 ± 0,007	88,09 ± 0,40

- *Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến quá trình trích ly*

Nhiệt độ là một trong những yếu tố công nghệ quan trọng ảnh hưởng lớn tới hiệu suất trích ly các hoạt chất sinh học từ nguyên liệu thực vật. Thông thường, nhiệt độ trích ly càng cao sẽ làm nguyên

liệu tăng khả năng trương nở, dung môi trích ly trở nên linh động hơn, làm tăng vận tốc của quá trình khuếch tán, làm giảm độ nhớt của các hoạt chất, dẫn đến hiệu suất trích ly được tăng lên. Tuy nhiên, nhiệt độ cũng là một trong những yếu tố giới hạn vì nếu nhiệt độ trích ly tăng quá cao có thể

sẽ thúc đẩy các biến đổi hóa học không mong muốn đối với các hoạt chất, gây ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm cao chiết. Để xác định được nhiệt độ trích ly đến quá trình trích ly các hoạt chất sinh

học từ vỏ quế, đã tiến hành khảo sát tại các mức nhiệt độ: 40°C, 50°C, 60°C, 70°C và 80°C. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến quá trình trích ly

Nhiệt độ trích ly (°C)	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
40	3,786 ± 0,045	80,39 ± 0,96	1,441 ± 0,016	81,43 ± 0,90
50	4,180 ± 0,042	88,75 ± 0,89	1,560 ± 0,013	88,16 ± 0,73
60	4,297 ± 0,033	91,24 ± 0,70	1,599 ± 0,010	90,35 ± 0,57
70	4,331 ± 0,038	91,96 ± 0,81	1,603 ± 0,011	90,62 ± 0,61
80	4,289 ± 0,041	91,07 ± 0,87	1,596 ± 0,014	90,19 ± 0,79

Bảng 7 cho thấy, hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng tăng theo chiều tăng của nhiệt độ đến ngưỡng 60°C thì chững lại hoặc tăng thêm không đáng kể, hoặc có chiều giảm nhẹ do tác động của nhiệt độ cao đã có thể xảy ra những biến đổi hóa học, thất thoát tinh dầu, ảnh hưởng đến quá trình trích ly. Do vậy, nhiệt độ 60°C là nhiệt độ thích hợp nhất cho quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ vỏ quế. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Thủy và cs (2020) [14], theo đó nhiệt độ thích hợp để trích ly polyphenol từ lá cây măng cầu xiêm là 60°C.

- Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến quá trình trích ly cao chiết

Thời gian ảnh hưởng tới hiệu suất của quá trình trích ly các hoạt chất từ thực vật theo chiều tỷ lệ thuận, nghĩa là thời gian trích ly càng dài thì hiệu suất trích ly càng cao. Tuy nhiên, thời gian không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến chi phí sản xuất và chất lượng sản phẩm cao chiết. Do vậy, đối với mỗi loại nguyên liệu với hàm lượng, chủng loại hoạt chất khác nhau và cấu trúc nguyên liệu khác nhau cần có thời gian trích ly thích hợp khác nhau. Trong thí nghiệm này, thời gian trích ly được khảo sát ở các mức: 6, 7, 8, 9 và 10 giờ. Kết quả được trình bày trong bảng 8.

Bảng 8. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến quá trình trích ly

Thời gian trích ly (giờ)	Hiệu suất trích ly tinh dầu, %		Hiệu suất trích ly polyphenol, %	
	So với tổng lượng chất khô	So với lượng tinh dầu trong nguyên liệu	So với tổng lượng chất khô	So với lượng polyphenol trong nguyên liệu
6 (3,5 + 2,5)	3,981 ± 0,038	84,52 ± 0,81	1,481 ± 0,013	83,68 ± 0,73
7 (4 + 3)	4,188 ± 0,041	88,93 ± 0,87	1,558 ± 0,015	88,04 ± 0,85
8 (4,5 + 3,5)	4,297 ± 0,033	91,24 ± 0,70	1,599 ± 0,010	90,35 ± 0,57
9 (5 + 4)	4,355 ± 0,036	92,47 ± 0,76	1,624 ± 0,012	91,76 ± 0,68
10 (5,5 + 4,5)	4,379 ± 0,031	92,98 ± 0,65	1,632 ± 0,011	92,19 ± 0,62

Bảng 8 cho thấy, thời gian trích ly ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly các hoạt chất tinh dầu và polyphenol và đạt ngưỡng ở mức 9 giờ (lần 1: 5 giờ;

lần 2: 4 giờ) vì có kéo dài thời gian trích ly, hiệu suất trích ly tăng không đáng kể, ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế.

3.3.4. Nghiên cứu làm giàu các hoạt chất sinh học trong cao chiết vỏ quế

Sau quá trình trích ly, cao chiết vỏ quế thô thu được ở dạng sệt có chứa một lượng không nhỏ các tạp chất khác (không phải các hợp chất tinh dầu và hoạt chất polyphenol). Để làm giàu các hoạt chất chống sinh học trong cao chiết, cần tách được (hay loại bỏ) các tạp chất ra khỏi cao chiết. Các tạp chất này thường là các hợp chất carbohydrat, các hợp chất màu, đó là các hợp chất có độ phân cực khá cao, có thể hòa tan trong nước. Thông thường để tách các tạp chất có độ phân cực cho mục đích làm giàu các hợp chất chống oxy hóa trong cao chiết, người ta thường hay sử dụng phương pháp trích ly lại với hệ dung môi có độ phân cực khác nhau. Nghiên cứu đã thử nghiệm 03 hệ dung môi diethyl eter/nước, ethyl acetate/nước và dichloetane/nước với tỉ lệ 1: 1 để làm giàu các hoạt chất chống sinh học trong cao chiết vỏ quế thô (với 2 lần trích ly). Kết quả thu được cho thấy, hệ dung môi ethyl acetate/nước (tỉ lệ 1: 1) là thích hợp nhất cho mục

đích tinh sạch cao chiết vỏ quế thô. Cao chiết sau tinh sạch bằng ethyl acetate/nước (tỉ lệ 1: 1) đã được phân tích chất lượng và thành phần tinh dầu quế trong cao chiết. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 9 và 10.

Bảng 9 cho thấy, cao chiết sau tinh sạch đã được làm giàu các hoạt chất sinh học với hàm lượng tinh dầu và polyphenol tổng rất cao lần lượt đạt 477,8 và 182,9 (mg/g). Kết quả phân tích thành phần tinh dầu quế trong cao chiết bởi GC-MS (Bảng 10) cho thấy, tinh dầu quế hội tụ đầy đủ các thành phần chính, đặc biệt hàm lượng thành phần chủ yếu, quan trọng trans-cinnamaldehyde rất cao (92,18%). Ngoài ra, cao chiết còn được phân tích các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm, qua đó cho thấy cao chiết sau tinh sạch hoàn toàn đáp ứng các yêu cầu về chất lượng và an toàn thực phẩm để có thể làm nguyên liệu cho sản xuất thực phẩm và hóa mỹ phẩm (trong đó có sản phẩm hương liệu khử mùi).

Bảng 9. Phân tích chất lượng sản phẩm cao chiết giàu các hoạt chất sinh học từ vỏ quế

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị đo	Kết quả
1	Trạng thái	-	Cao đặc
2	Màu sắc	-	Màu nâu đỏ
3	Độ ẩm	%	1,75 ± 0,15
4	Mùi	-	Mùi thơm đặc trưng của vỏ quế, giống mùi cinnamaldehyde
5	Hàm lượng tinh dầu	mg/g	477,8 ± 5,1
6	Hàm lượng polyphenol tổng	mg/g	182,9 ± 1,9
7	Dư lượng ethyl acetate	ppm	Vết

Bảng 10. Hàm lượng các thành phần chính của tinh dầu trong cao chiết vỏ quế

TT	Tên thành phần	Thời gian lưu, phút	Hàm lượng, % diện tích pic
1	Benzaldehyde	6,36	0,13
2	Benzenepropanal	11,86	0,22
3	Trans-cinnamaldehyde	15,17	92,18
4	2-Propenal, 3-phenyl-	16,13	0,14
5	alfa-Copaene	17,57	1,90
6	Coumarin	19,18	0,95
7	Cinnamyl acetate	19,44	1,10

8	gamma-Muurolene	20,08	0,27
9	alpha-Muurolene	20,66	0,55
10	beta-Bisabolene	20,93	0,16
11	2-Propenal, 3-(2-methoxyphenyl)-	21,57	0,45
12	Trans-methoxycinnamaldehyde	23,23	0,29

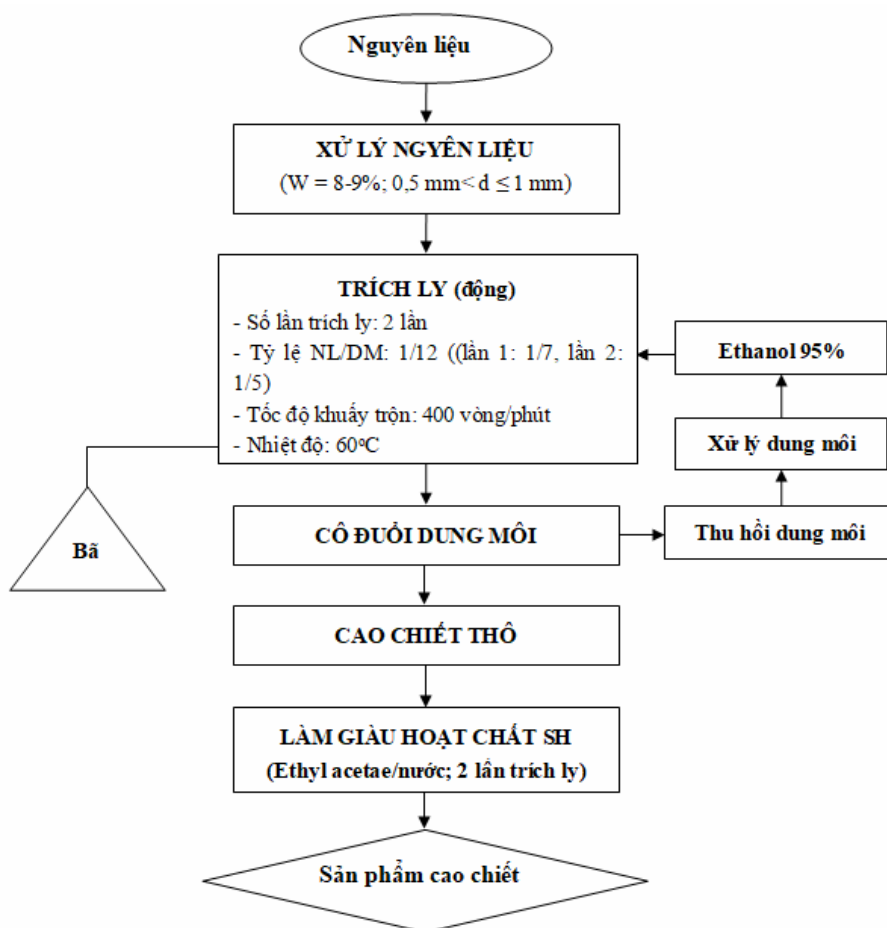
3.3.5. Xây dựng quy trình công nghệ thu nhận cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế

Từ các kết quả nghiên cứu được trình bày ở trên, có thể đề xuất được quy trình công nghệ thích hợp cho việc thu nhận cao chiết giàu các hoạt chất sinh học từ vỏ quế, được thể hiện ở hình 1 (có thuyết minh quy trình kèm theo).

Thuyết minh quy trình công nghệ

- *Nguyên liệu:* Vỏ quế vụn sau khi thu hoạch được phơi hoặc sấy khô đến độ ẩm khoảng 12 - 13% (đảm bảo tiêu chuẩn xuất khẩu và sử dụng trong nước). Nguyên liệu vỏ quế cần được bảo quản trong túi PE kín, để ở nơi thoáng mát.

- *Xử lý nguyên liệu:* Nguyên liệu sau khi thu mua được sấy trong tủ sấy đối lưu (có quạt gió) ở nhiệt độ thấp hơn 80°C đến độ ẩm khoảng 8 - 9%. Nguyên liệu sau khi sấy được đem đi xay với kích thước 0,5 mm < d ≤ 1 mm.



Hình 1. Sơ đồ quy trình công nghệ trích ly các hoạt chất sinh học từ vỏ quế

- *Công đoạn trích ly:* Cân 100 g nguyên liệu bột quế đã được xử lý cùng 700 ml dung môi ethanol 95% cho vào bình trích ly. Lắp đặt bình trích ly vào hệ thống thiết bị trích ly. Điều chỉnh tốc độ khuấy trộn

khoảng 400 vòng/phút, rồi gia nhiệt sao cho nhiệt độ trong suốt quá trình trích ly đạt 60°C. Sau thời gian trích ly 5 giờ, dịch trích ly được lọc tách riêng ra, bã trích ly được cho lại vào bình trích ly cùng 500 ml

ethanol 95% để trích ly lần hai với các điều kiện công nghệ giống như lần 1 với thời gian trích ly 4 giờ. Gộp dịch trích ly lần 1 và lần 2 lại rồi cho vào bình để đưa sang công đoạn cô đuổi dung môi.

- *Cô đuổi dung môi:* Dịch trích ly thu được từ công đoạn trích ly được cô đuổi dung môi ở thiết bị cô quay chân không cho đến cạn kiệt ở áp suất thấp sẽ thu được sản phẩm cao chiết vỏ quế thô. Dung môi thu hồi được xử lý và được sử dụng lại ở quá trình trích ly tiếp theo. Bã trích ly được sử dụng cho các mục đích khác.

- *Công đoạn làm giàu hoạt chất sinh học:* Cao chiết vỏ quế thô (20 g) được hòa vào 200 ml nước, rồi cho vào phễu chiết (dung tích 1.000 ml). Thêm 200 ml ethyl acetate vào phễu chiết, rồi lắc đều mạnh, để lắng cho phân rõ hai lớp. Rút dung dịch trong ethyl acetate (lớp trên) ra. Lớp nước phía dưới tiếp tục được trích ly lần hai với 200 ml ethyl acetate. Gộp dung dịch trong ethyl acetate lại, làm khô bằng Na_2SO_4 , rồi đuổi kiệt dung môi sẽ thu sản phẩm cao chiết đã được làm giàu các hoạt chất sinh học. Dung môi ethyl acetate thu hồi sẽ được xử lý để tái sử dụng.

3.4. Nghiên cứu ứng dụng cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế cho sản xuất sản phẩm hương liệu khử mùi

3.4.1. Lựa chọn công thức phối trộn tạo sản phẩm hương liệu khử mùi

Thông thường, hương liệu khử mùi thường được pha loãng trong cồn 50 - 70% với hàm lượng chất thơm khoảng 1,0 - 1,4% để đảm bảo an toàn cho người sử dụng, nhất là đối với trẻ em. Hương liệu trong sản phẩm khử mùi thường là một tổ hợp các mùi thơm (hay đơn hương) sao cho sản phẩm không chỉ có hiệu quả khử mùi cao mà còn tạo ra cảm giác dễ chịu cho người sử dụng. Từ các tài liệu tham khảo và các kết quả nghiên cứu thăm dò cho thấy, tinh dầu bạc hà và tinh dầu sả chanh phù hợp cho việc phối hương với tinh dầu quế để tạo ra tổ hợp hương thơm có mùi dễ chịu, được người sử dụng ưa thích. Từ đó, đã tìm ra được 10 công thức phối trộn cho sản phẩm hương liệu khử mùi để đưa ra Hội đồng phân tích và đánh giá chất lượng sản phẩm. Kết quả được trình bày trong bảng 11.

Bảng 11. Công thức phối trộn tạo sản phẩm hương liệu khử mùi

Công thức hương liệu	Thành phần tạo hương liệu, g			
	Ethanol 60%	Cao chiết vỏ quế	Tinh dầu bạc hà	Tinh dầu sả chanh
CT01	990	10	-	-
CT02	988	12	-	-
CT03	986	14	-	-
CT04	988	10	1	1
CT05	988	9	1,5	1,5
CT06	988	9	1	2
CT07	988	9	2	1
CT08	988	8	2	2
CT09	988	8	2,5	1,5
CT10	988	8	1,5	2,5

3.4.2. Phân tích và đánh giá chất lượng sản phẩm hương liệu khử mùi

Hương liệu khử mùi thường được phân tích và đánh giá chất lượng thông qua hai chỉ tiêu quan trọng, đó là: Hiệu quả khử mùi và chất lượng mùi

thơm. Việc phân tích và đánh giá chất lượng sản phẩm được thực hiện bởi Hội đồng đánh giá gồm 8 thành viên. Kết quả của Hội đồng đánh giá được thể hiện tại bảng 12.

Bảng 12. Kết quả phân tích và đánh giá chất lượng sản phẩm hương liệu khử mùi

Số TT	Mẫu công thức của sản phẩm	Đánh giá hiệu quả khử mùi của sản phẩm, %	Đánh giá mùi sản phẩm, %
1	CT01	94,59	3,38
2	CT02	97,30	3,38
3	CT03	97,30	3,25
4	CT04	94,59	3,75
5	CT05	94,59	4,15
6	CT06	97,30	4,25
7	CT07	91,89	4,00
8	CT08	91,89	4,50
9	CT09	86,48	4,75
10	CT10	89,19	4,50

Từ kết quả phân tích và đánh giá chất lượng các mẫu sản phẩm hương liệu khử mùi tại bảng 10 cho thấy, cả 10 mẫu sản phẩm hương liệu khử mùi (CT01 - CT10) đều có hiệu quả khử mùi cao (86,48 - 97,3%), trong đó có 03 mẫu đạt hiệu quả 97,3%. Xét về tiêu chí mùi sản phẩm, các mẫu sản phẩm được phối thêm tinh dầu bạc hà và tinh dầu sả chanh có điểm cảm quan về mùi cao hơn các mẫu sản phẩm chỉ có riêng cao chiết vỏ quế. Trong hai chỉ tiêu được phân tích và đánh giá chất lượng, chỉ tiêu hiệu quả khử mùi là chỉ tiêu quan trọng nhất. Do vậy, 03 mẫu CT01, CT02 và CT06 có hiệu quả khử mùi 97,3% được đưa vào xem xét lựa chọn,

trong đó mẫu CT06 có điểm đánh giá mùi cao nhất (4,25) nên được lựa chọn là mẫu sản phẩm hương liệu khử mùi thích hợp nhất.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đề xuất được quy trình công nghệ trích ly động, với tốc độ khuấy trộn 400 vòng/phút để thu nhận cao chiết thô chứa các hoạt chất sinh học từ vỏ quế bằng ethanol 95% và các thông số công nghệ: Nguyên liệu có độ ẩm: 8 - 9%; kích thước 0,5 mm < d ≤ 1 mm; số lần trích ly 2 lần. Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi: 1/12 (lần 1: 1/7, lần 2: 1/5); nhiệt độ trích ly: 60°C; thời gian trích ly khoảng 9 giờ (lần 1: 5 giờ, lần 2: 4 giờ). Với công

nghe này hiệu suất trích ly tinh dầu và polyphenol tổng đạt 91,7 - 92,5%. Sản phẩm cao chiết thô được tinh sạch (hay làm giàu các hoạt chất sinh học) bằng phương pháp trích ly lại với hệ dung môi ethyl acetate/nước (1: 1) sẽ cho sản phẩm cao chiết giàu hoạt chất sinh học với hàm lượng tinh dầu và polyphenol tổng rất cao lần lượt đạt 477,8 và 182,9 mg/g, hàm lượng thành phần chính trans-cinnamaldehyde trong tinh dầu cũng rất cao (92,18%). Hơn nữa, sản phẩm cao chiết còn đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm nên hoàn toàn đáp ứng các yêu cầu về chất lượng và an toàn thực phẩm để có thể làm nguyên liệu cho sản xuất thực phẩm và hóa mỹ phẩm (trong đó có sản phẩm hương liệu khử mùi). Sản phẩm cao chiết đã được ứng dụng thử nghiệm cho sản xuất sản phẩm hương liệu khử mùi. Kết quả thử nghiệm cho thấy, sản phẩm hương liệu khử mùi với thành phần chính là cao chiết giàu hoạt chất sinh học từ vỏ quế có mùi thơm dễ chịu, hài hòa và có hiệu quả khử mùi đạt 97,3%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO (2021). Crops and livestock products: Cinnamon (production quantity), FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
2. Anderson RA, Broadhurst CL, Polansky MM, *et al.* (2004). Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 65 - 70.
3. Tanaka T, Matsuo Y, Yamada Y, Kouno I. (2008). Structure of polymeric polyphenols of cinnamon bark deduced from condensation products of cinnamaldehyde with catechin and procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5864 - 5870.
4. Abeysekera và cộng sự (2013). *In vitro* Antioxidant Properties of Leaf and Bark Extracts of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Tropical Agricultural Research*, 24(2), 128 - 138.
5. Nguyễn Thị Kiều Diễm (2020). Nghiên cứu tạo sản phẩm nano từ cao chiết vỏ quế, Luận văn thạc sĩ ngành Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
6. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*. Nxb Y học, PL-279.
7. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7039:2002. Xác định hàm lượng tinh dầu (trong nguyên liệu và cao chiết) bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước (trên thiết bị xác định hàm lượng tinh dầu nặng kiểu Clevender).
8. Yadav, R. N. S., Agarwal. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants, *Journal of Phytology*, 3(12), 10 - 14.
9. Tiêu chuẩn cơ sở TCCS:FIRI.M.227 (GC/MS). Xác định các hợp chất thơm dễ bay hơi của Trung tâm phân tích và Giám định thực phẩm Quốc gia, Viện Công nghiệp thực phẩm).
10. ISO (2020). Indoor air - Part 28: Determination of odour emissions from building products using test chambers, International Organization for Standardization, Genève, 2nd edition, Nov 2020.
11. ASTM International (2018). Standard Practice for Referencing Suprathreshold Odor Intensity, ASTM E544-18, ASTM International, West Conshohocken, PA.
12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79. Phân tích cảm quan sản phẩm thực phẩm.
13. Hong E., Park K.H., Kim G-H (2011). Phenolic-enriched fractions from *Perilla frutescens* var. *acuta*: Determinating rosmarinic acid antioxidants activity. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 1637 - 1645.
14. Nguyễn Văn Thủy và cs (2020). Ảnh hưởng của các điều kiện chiết tách đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng của lá cây Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* Linn.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, 9, 52 - 56.

RESEARCH ON OBTAINING EXTRACT RICH IN BIOACTIVE SUBSTANCES FROM CINNAMON BARK, APPLICATION FOR PRODUCING DEODORANT FLAVORING PRODUCTS**Bui Thi Bich Ngoc¹, Bui Quang Thuat¹**¹*Food industries research institute***Abstract**

In addition to essential oils - the most important and valuable ingredient, cinnamon bark also contains a significant amount of polyphenols, a group of natural active ingredients with antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and many other biological effects. The combination of two groups of essential oils and polyphenols in the extract obtained from cinnamon bark greatly increases the antioxidant, antibacterial, deodorizing, etc. properties of the extract, opening up the potential for wide applications in biotechnology and chemistry. One of those applications is to create a new deodorant flavoring product belonging to the product line of natural origin, which is very suitable for the current usage trend of consumers. In this paper, we focus on the technology of obtaining bioactive extracts from cinnamon bark to create a friendly deodorant product with high deodorizing effect. Through the research results, we have built a technological process for extracting and enriching bioactive substances from cinnamon bark in Lang Son province using 95% ethanol and the following technological parameters: Raw material moisture: 8 - 9%; size $0.5\text{ mm} < d \leq 1\text{ mm}$; Number of extractions: 2 times; Raw material/solvent ratio: 1/12 (first time: 1/7, second time: 1/5); Extraction temperature: 60°C; Extraction time is about 9 hours (first time: 5 hours, second time: 4 hours). With this technology, the extraction efficiency of essential oils and total polyphenols reaches 91.7 - 92.5%. The herbal extract product is purified by re-extraction with the solvent system ethyl acetate/water (1: 1) to produce an extract product rich in biological substances with very high essential oil and total polyphenol content such as 477.8 and 182.9 mg/g, the main component *trans*-cinnamaldehyde content in the essential oil is also very high (92.18%). The purified extract product has been tested for the production of deodorant flavoring, the test results show that the deodorant flavoring product with the main ingredient being the extract rich in biologically active substances from cinnamon bark has a pleasant, harmonious aroma and has a deodorizing effect of 97.3%.

Keywords: *Cinnamon bark, bioactive substances, essential oils, polyphenols, deodorant flavoring product, extracts.*

Ngày nhận bài: 12/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 22/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 14/7/2025

Ngày duyệt đăng: 30/7/2025

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT SAPONIN VÀ CÁC HOẠT CHẤT THIÊN NHIÊN TỪ LÁ TRÀ THẠCH CHÂU HOA VÀNG (*Pyrenaria jongquieriana* P.) CHO SẢN XUẤT ĐỒ UỐNG HÒA TAN

Bùi Quang Thuật^{1,*}, Đặng Thị Thanh Quyên², Đỗ Thị Kim Loan², Bùi Thị Bích Ngọc¹

¹ Viện Công nghiệp thực phẩm

² Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp, Bộ Công Thương

* Email: thuatbq@firi.vn

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, xu hướng ứng dụng các hoạt chất thiên nhiên từ thực vật trong chế biến đồ uống giải khát đang ngày càng trở nên phổ biến bởi người tiêu dùng có xu hướng thích sử dụng các sản phẩm an toàn, lành mạnh và tự nhiên. Hàng loạt sản phẩm đồ uống sử dụng các dịch chiết (ép) từ tía tô, dầu tây, nha đam, gừng, húng quế, lá trà xanh, cà rốt... đã ra đời và được người tiêu dùng đón nhận. Một trong những loại thực vật được quan tâm nghiên cứu và sử dụng cho ngành đồ uống là cây trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria jongquieriana* P.) bởi trong lá có chứa nhiều các hoạt chất quý như: Saponin, polyphenol và flavonoid. Trong bài báo này, đề cập về nghiên cứu công nghệ chiết xuất (có hỗ trợ siêu âm) saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng để thu nhận cao chiết ứng dụng trong sản xuất đồ uống hòa tan. Từ kết quả nghiên cứu ảnh hưởng đơn yếu tố của các thông số công nghệ đến quá trình trích ly hoạt chất, đã tiến hành tối ưu hóa quá trình trích ly bằng phương pháp bề mặt đáp ứng theo mô hình Box Behnken với 3 yếu tố đầu vào (Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu; thời gian siêu âm và nhiệt độ ngâm chiết) và 2 hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi cao chiết và hàm lượng saponin trong cao chiết. Phần mềm Design Expert phiên bản 13 được sử dụng cho phân tích hồi qui, thiết lập các đa thức bậc hai biểu thị mối liên hệ giữa các biến độc lập và các biến phụ thuộc. Từ các kết quả thu được, đưa ra quy trình công nghệ chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng với hiệu suất trích ly đạt khoảng 30% (so với nguyên liệu khô). Sản phẩm cao chiết giàu các hoạt chất với hàm lượng saponin, polyphenol và flavonoid lần lượt là: $76,8 \pm 1,24$, $255,7 \pm 1,66$ và $284,2 \pm 2,07$ mg/g. Cao chiết còn có mùi vị đặc trưng của lá trà Thạch Châu hoa vàng, hoàn toàn đáp ứng các yêu cầu chất lượng để làm nguyên liệu cho sản xuất đồ uống hòa tan.

Từ khóa: Trà Thạch Châu hoa vàng, hoạt chất thiên nhiên, trích ly, tối ưu hóa, phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM).

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây trà (hay chè) hoa vàng có tên tiếng Anh Golden Camellia hay Yellow Camellia, thuộc họ Theaceae, đa số các loài của chúng thuộc chi *Camellia*. Đây là loại cây rất hiếm gặp trong tự nhiên, có nguồn gốc từ miền Đông và miền Nam châu Á, từ dãy Himalaya về phía đông tới Nhật Bản và Indonexia. Trà hoa vàng thường là loại cây ưa bóng nên sinh trưởng dưới tán rừng nguyên sinh hoặc thứ sinh đã qua tác động khai thác. Theo

nhiều kết quả nghiên cứu, hiện có khoảng 85 loài trà hoa vàng được tìm thấy tại Trung Quốc và Việt Nam, trong đó có 58 loài được rải khắp ở nước ta nhưng tập trung chủ yếu ở một số tỉnh miền núi phía Bắc [1]. Trong số các chi trà hoa vàng phổ biến ở Việt Nam có chi *Pyrenaria* - trà Thạch Châu hoa vàng. Chi *Pyrenaria* hoặc Pyren tiếng Hy Lạp dịch ra là "Hạt cứng" vì thế gọi là "Thạch châu", mọc tại nhiều vùng trên khắp cả nước...và có 5 loài đã được công bố bao gồm: *Pyrenaria*

garentiana Craib, *Pyrenaria jonquieriana* Piere., *Pyrenaria poilaneana* Gagn., *Pyrenaria serrata* Bl và *Pyrenaria chelienesis* Hu [2].

Trong thời gian gần đây, trên thế giới cũng như tại Việt Nam đã có những nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học (khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn, hoạt tính kháng ung thư) của trà hoa vàng nói chung và của trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria*) nói riêng [2 - 4]. Về thành phần hóa học, từ các nghiên cứu đã được thực hiện, có thể đưa ra nhận định bước đầu rằng cây trà Thạch Châu hoa vàng có sự tương đồng về thành phần hóa học với các loài trà hoa vàng khác. Sự đa dạng thành phần với sự hiện diện của nhiều hợp chất thuộc các nhóm flavonoid, saponin, polyphenol, axit amin, vitamin và các nguyên tố khoáng, có thể mang lại cho trà hoa vàng nhiều hoạt tính có giá trị. Nghiên cứu của Võ Thiên Nhi (2023) về thành phần hóa học, thu nhận cao chiết từ lá của cây trà Thạch Châu (*Pyrenaria jonquieriana* P.), đồng thời đánh giá khả năng sinh học (kháng khuẩn, chống oxy hóa, độc tế bào, ức chế enzyme α -glucosidase) của các cao chiết này cũng như ứng dụng chúng cho sản xuất cốm hòa tan [5].

Nhằm góp phần tạo các sản phẩm mới, hữu ích và nâng cao giá trị cây trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria jonquieriana* P.), đề tài đã thực hiện nghiên cứu chiết xuất các hoạt chất thiên nhiên quý (saponin, polyphenol và flavonoid) từ lá trà Thạch Châu hoa vàng bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm, định hướng ứng dụng cho sản xuất đồ uống hòa tan.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Lá của cây trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria jonquieriana* P.), một loại trà hoa vàng được thu hái vào tháng 11 năm 2024 ở huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích nguyên liệu lá trà Thạch Châu hoa vàng

- Xác định độ ẩm (trong nguyên liệu và cao chiết) bằng phương pháp chưng cất với toluen.

- Xác định hàm lượng chất khô hòa tan (hay chất chiết trong nước) theo TCVN 5610:2007 [6].

- Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (trong nguyên liệu và cao chiết): Được xác định theo mô tả của Yadav và Agarwal (2011) [7].

- Xác định hàm lượng flavonoid tổng (trong nguyên liệu và cao chiết): Được xác định theo mô tả của Chang và cs (2002) [8].

- Xác định hàm lượng saponin: được xác định theo mô tả của Ahmed [9].

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của các thông số công nghệ (đơn yếu tố) đến quá trình trích ly hoạt chất từ lá trà Thạch Châu hoa vàng

Quá trình chiết xuất các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu được thực hiện trong bộ trích ly có hỗ trợ siêu âm. Các thí nghiệm được tiến hành với 100 g nguyên liệu đã được xử lý đến độ ẩm khoảng 12% và kích thước nguyên liệu: $1\text{ mm} < d \leq 2\text{ mm}$. Sau thời gian trích ly có hỗ trợ siêu âm với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi nhất định, tiến hành ngâm chiết ở nhiệt độ và trong thời gian nhất định. Sau đó, dịch trích ly được tách ra khỏi bã, rồi cô kiệt dung môi bằng thiết bị cô quay chân không đến trọng lượng không đổi sẽ thu được cao chiết. Sau đó, tiến hành xác định hàm lượng saponin tổng có trong cao chiết. Hiệu suất trích ly được tính bằng % khối lượng cao chiết thu được so với trọng lượng khô của nguyên liệu. Mỗi mẫu thí nghiệm được lặp lại 3 lần và xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft excel và IRRISTAT 4.0.

Khi nghiên cứu ảnh hưởng đơn yếu tố của các thông số công nghệ đến quá trình trích ly hoạt chất, đã dựa trên nguyên tắc: Khi nghiên cứu ảnh hưởng của một yếu tố nhất định thì các thí nghiệm đều được tiến hành ở cùng các điều kiện công nghệ (trừ yếu tố đang được khảo sát). Sau khi chọn được giá trị thích hợp của các yếu tố đã được nghiên cứu thì các giá trị đó được cố định trong các thí nghiệm tiếp theo để khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố còn lại. Việc lựa chọn các giá trị thích hợp của các yếu tố công nghệ dựa vào hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết.

2.2.3. Phương pháp tối ưu hóa quá trình chiết xuất saponin và các hoạt chất từ lá trà Thạch Châu hoa vàng

Việc thiết kế thực nghiệm và tối ưu hóa quá trình trích ly hoạt chất được thực hiện như sau:

+ Thiết kế thực nghiệm: Phương pháp bề mặt đáp ứng RSM (Response Surface method) theo mô hình Box Behnken được lựa chọn để nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly thu cao chiết từ lá trà Thạch Châu hoa vàng bao gồm: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A, mg/g), thời gian xử lý siêu âm (B, phút) và nhiệt độ ngâm chiết (C, °C) đến các hàm mong đợi là hiệu suất thu cao chiết (Y1, %) và hàm lượng saponin của cao chiết (Y2, mg/g). Thiết kế này gồm 15 thí nghiệm, trong đó có 3 nghiệm thức lặp lại ở điểm tâm.

+ Tối ưu hóa quá trình trích ly: Phần mềm Design Expert phiên bản 13 được sử dụng cho phân tích hồi qui, thiết lập các đa thức bậc hai biểu thị mối liên hệ giữa các biến độc lập và các biến phụ thuộc. Ứng dụng phương pháp hàm mong đợi xác định điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly với mục tiêu là hiệu suất thu cao chiết (Y1, %) và hàm lượng saponin của cao chiết (Y2, mg/g) đạt cực đại.

+ Lặp lại thí nghiệm ở điều kiện tối ưu đã lựa chọn để kiểm chứng kết quả dự đoán trên phần mềm đưa ra.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích, đánh giá và lựa chọn nguyên liệu

Nguyên liệu lá trà Thạch Châu hoa vàng trước khi đưa vào chiết tách để thu nhận cao chiết giàu hoạt chất sinh học, cần được phân tích các thành phần hóa học (các hoạt chất chính) nhằm đánh giá được chất lượng nguyên liệu, đồng thời đánh giá được hiệu quả chiết tách các hoạt chất sinh học từ nguyên liệu. Lá trà được thu hái thủ công, vào thời điểm buổi sáng trên nhiều cây ở những vị trí khác nhau trong vườn. Lá trà được hái ở 3 cấp độ sinh trưởng:

- + Độ già 1 (ĐG1): Lá xanh non.
- + Độ già 2 (ĐG2): Lá xanh (lá bánh tẻ).
- + Độ già 3 (ĐG3): Lá xanh đậm (lá già).

Kết quả phân tích xác định các thành phần các hoạt chất chính của lá trà Thạch Châu hoa vàng được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Thành phần các hoạt chất chính của lá trà Thạch Châu hoa vàng

Mẫu nguyên liệu	Độ ẩm, %	Hàm lượng (tính theo chất khô), %			
		Chất khô hòa tan	Polyphenol tổng	Flavonoid tổng	Saponin tổng
ĐG1	74,6 ± 0,6	31,55 ± 1,21	17,28 ± 0,73	18,77 ± 0,82	3,95 ± 0,14
ĐG2	73,2 ± 0,4	31,24 ± 1,15	17,91 ± 0,77	19,63 ± 0,79	4,36 ± 0,16
ĐG3	72,4 ± 0,5	30,76 ± 1,12	18,62 ± 0,80	20,59 ± 0,86	4,90 ± 0,19

Ghi chú: Hàm lượng polyphenol tổng được tính theo axit galic, flavonoid tổng tính theo quercetin, saponin tổng được tính theo axit oleanolic.

Từ kết quả thu được tại bảng 1 cho thấy, lá trà Thạch Châu có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng của các nhóm hoạt chất flavonoid, polyphenol và saponin theo độ già của lá. Hàm lượng của 3 nhóm hoạt chất này đạt cao nhất trong lá già màu xanh đậm (ĐG3). So với lá chè xanh thông thường, lá trà Thạch Châu có hàm lượng flavonoid và polyphenol thấp hơn nhưng có hàm lượng saponin cao hơn. Đây cũng chính là điểm nổi trội của giống trà hoa vàng. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trong và ngoài nước đã được công bố về trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria*

jonquieriana P.). Với mục đích thu nhận cao chiết giàu hoạt chất saponin để sản xuất đồ uống hòa tan, lá trà già ĐG3 được lựa chọn là loại nguyên liệu phù hợp nhất.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của các thông số công nghệ (đơn yếu tố) đến quá trình trích ly hoạt chất từ lá trà Thạch Châu hoa vàng

Nguyên liệu thực vật trước khi tiến hành chiết xuất để thu nhận các hoạt chất sinh học cần được xử lý nhằm tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết xuất các hoạt chất. Thông thường, khi xử lý nguyên liệu trước chiết xuất người ta quan tâm

đến hai yếu tố là độ ẩm và kích thước nguyên liệu. Tuy nhiên, đối với việc thu nhận saponin và các hoạt chất sinh học (polyphenol, flavonoid) từ nguyên liệu trà Thạch Châu hoa vàng bằng dung môi ethanol với nồng độ nhất định thì độ ẩm nguyên liệu không có ảnh hưởng nhiều đến quá trình chiết xuất. Mặt khác, vùng nguyên liệu ở xa nên nguyên liệu cần sấy khô đến độ ẩm khoảng 12% để tiện cho việc bảo quản và vận chuyển, không gây ảnh hưởng gì tới quá trình thu nhận saponin và các hoạt chất sinh học. Đối với kích thước nguyên liệu, qua khảo sát xác định được kích thước thích hợp là $1\text{ mm} < d \leq 2\text{ mm}$.

3.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến quá trình trích ly

Các hoạt chất chính trong lá trà Thạch Châu là saponin, polyphenol và flavonoid đều tan tốt trong ethanol. Tuy nhiên, tùy thuộc vào thành phần của các nhóm chất này mà chúng sẽ tan tốt nhất trong ethanol có nồng độ nhất định. Do vậy, cần khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ethanol (trong nước) đến quá trình trích ly thu nhận cao chiết giàu saponin, để từ đó lựa chọn được dung môi trích ly thích hợp nhất. Nồng độ ethanol được khảo sát ở các mức: 50, 60, 70, 80 và 96%. Kết quả khảo sát được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến quá trình trích ly

Nồng độ ethanol, %	Hiệu suất trích ly, %	Hàm lượng saponin trong cao chiết, mg/g
50	$17,14 \pm 0,18$	$52,9 \pm 0,4$
60	$17,68 \pm 0,19$	$62,8 \pm 0,6$
70	$18,95 \pm 0,16$	$72,5 \pm 0,7$
80	$18,33 \pm 0,14$	$72,7 \pm 0,5$
96	$17,86 \pm 0,22$	$72,0 \pm 0,7$

Bảng 2 cho thấy, nồng độ ethanol ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong sản phẩm cao chiết. Xét về hiệu suất trích ly, dung môi ethanol 70% cho hiệu suất cao nhất, trong khi xét về hàm lượng saponin trong cao chiết thì ethanol 80% cho hàm lượng cao nhất nhưng cao hơn không đáng kể so với ethanol 70%. Tổng hợp cả hai yếu tố này, lựa chọn dung môi ethanol 70% là thích hợp nhất quá trình trích ly

thu nhận cao chiết giàu saponin và các hoạt chất từ lá trà Thạch Châu. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Võ Thiên Nhi (2023) khi nghiên cứu chiết xuất các hoạt chất sinh học từ lá trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria jonquieriana* P.) [5].

3.2.2. Ảnh hưởng của số lần trích ly

Việc xác định số lần trích ly là rất quan trọng đối với mỗi quá trình trích ly các hoạt chất từ thực vật vì ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả trích ly. Về nguyên tắc, số lần càng tăng hiệu suất trích ly càng cao nhưng đồng thời chi phí cho quá trình trích ly cũng tăng lên. Do vậy, đối với mỗi loại nguyên liệu, cần xác định được số lần trích ly thích hợp sao cho có hiệu quả kinh tế cao nhất. Số lần trích ly được khảo sát là: 1 lần, 2 lần và 3 lần cho quá trình trích ly cao chiết giàu hoạt chất saponin từ lá trà Thạch Châu. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến quá trình trích ly

Số lần trích ly, lần	Hiệu suất trích ly, %	Hàm lượng saponin trong cao chiết, mg/g
1	$13,64 \pm 0,19$	$72,9 \pm 0,6$
2	$18,95 \pm 0,16$	$72,5 \pm 0,7$
3	$19,77 \pm 0,13$	$70,6 \pm 0,9$

Kết quả thu được cho thấy, trích ly 1 lần cho hiệu suất trích ly thấp nhất nhưng trích ly 3 lần thì hiệu quả kinh tế không cao vì hiệu suất trích ly tăng không đáng kể so với trích ly 2 lần trong khi chi phí cho trích ly lần 3 tăng cao. Do vậy, số lần trích ly thích hợp nhất cho quá trình trích ly thu nhận cao chiết giàu hoạt chất từ lá trà Thạch Châu hoa vàng là 2 lần. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu thu nhận các hoạt chất sinh học từ thực vật trong và ngoài nước.

3.2.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến quá trình trích ly

Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới hiệu quả của quá trình trích ly các hoạt chất sinh học từ thực vật. Khi sử dụng quá ít dung môi thì hiệu suất trích ly thấp do dung môi không đủ để hòa tan lượng hoạt chất có

trong nguyên liệu. Nếu sử dụng dư thừa dung môi thì sẽ gây lãng phí dung môi, tăng lượng tạp chất, tốn năng lượng cho quá trình cô thu hồi dung môi nên hiệu quả kinh tế không cao. Do vậy, cần thiết phải xác định được tỷ lệ dung môi/nguyên liệu

thích hợp cho mỗi loại nguyên liệu để có hiệu quả kinh tế là cao nhất. Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu được khảo sát ở các mức 12/1, 14/1, 16/1, 18/1 và 20/1 (ml/g). Kết quả khảo sát được trình bày tại bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến quá trình trích ly

Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (ml/g)	Hiệu suất trích ly, %	Hàm lượng saponin trong cao chiết, mg/g
12/1 (lần 1: 7/1; lần 2: 5/1)	15,81 ± 0,19	71,2 ± 0,9
14/1 (lần 1: 8/1; lần 2: 6/1)	18,95 ± 0,16	72,5 ± 0,7
16/1 (lần 1: 9/1; lần 2: 7/1)	21,47 ± 0,20	72,9 ± 0,8
18/1 (lần 1: 10/1; lần 2: 8/1)	21,84 ± 0,22	72,7 ± 0,6
20/1 (lần 1: 11/1; lần 2: 9/1)	22,19 ± 0,23	72,4 ± 0,7

Bảng 4 cho thấy, hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết tăng tỷ lệ thuận với chiều tăng lượng dung môi trích ly. Tuy nhiên, đến ngưỡng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu: 16/1 nếu có tăng thêm lượng dung môi thì hiệu suất trích ly tăng không đáng kể, trong khi hàm lượng saponin trong cao chiết có phần giảm xuống, có thể là do lượng hoạt chất không mong muốn (như đường, chất màu) tăng mạnh hơn so với hoạt chất saponin.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian xử lý siêu âm đến quá trình trích ly

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến quá trình trích ly

Thời gian siêu âm, phút	Hiệu suất trích ly, %	Hàm lượng saponin trong cao chiết, mg/g
15	18,69 ± 0,26	71,8 ± 1,0
20	21,47 ± 0,20	72,9 ± 0,8
25	23,85 ± 0,23	74,0 ± 0,9
30	24,12 ± 0,21	73,2 ± 0,7
35	24,34 ± 0,19	73,0 ± 0,8

Trong quá trình trích ly có hỗ trợ của siêu âm, thời gian xử lý siêu âm đóng vai trò rất quan trọng và có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất trích ly và chất lượng sản phẩm cao chiết. Về nguyên tắc, thời gian xử lý siêu âm càng dài thì hiệu suất trích ly càng cao nhưng nếu thời gian xử lý siêu âm quá

dài trong khi hiệu suất trích ly tăng lên không đáng kể thì hiệu quả kinh tế không cao. Hơn nữa, kéo dài thời gian xử lý siêu âm gây tăng nhiệt độ cao, có thể ảnh hưởng xấu đến chất lượng sản phẩm cao chiết. Do vậy, đối với mỗi loại nguyên liệu cần xác định được thời gian xử lý siêu âm thích hợp cho hiệu quả cao nhất. Thời gian xử lý siêu âm được khảo sát ở các mức: 15, 20, 25, 30 và 35 phút. Kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Từ kết quả thu được tại bảng 5, nhận thấy thời gian xử lý siêu âm (của mỗi lần trích ly) có ảnh hưởng lớn đến đến hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết. Với thời gian xử lý siêu âm từ 15 - 25 phút, hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết tăng rất mạnh theo chiều tăng của thời gian xử lý. Nhưng khi tăng thời gian xử lý đến 30 - 35 phút thì hiệu suất trích ly tăng lên không đáng kể, trong khi hàm lượng saponin trong cao chiết giảm nhẹ. Do vậy, thời gian xử lý siêu âm thích hợp nhất cho quá trình trích ly lá trà Thạch Châu hoa vàng là 25 phút.

3.2.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ngâm chiết đến quá trình trích ly

Sau khi trích ly với hỗ trợ siêu âm, nguyên liệu cần được ngâm chiết tại nhiệt độ và thời gian nhất định để hoạt chất còn lại nguyên liệu sau xử lý siêu âm có những điều kiện cần thiết hòa tan triệt để hơn vào dung môi trích ly, nâng cao hiệu quả trích ly. Vấn đề đặt ra là xác định được nhiệt độ và thời gian ngâm chiết thích hợp cho hiệu quả trích ly cao nhất. Tiến hành nghiên cứu khảo sát nhiệt

độ ngâm chiết ở các mức: 40, 50, 60, 70 và 80°C; Thời gian ngâm chiết ở các mức: 40, 50, 60, 70 và 80 phút. Kết quả được trình bày tại bảng 6 và bảng 7.

Kết quả thu được ở bảng 6 cho thấy, nhiệt độ ngâm chiết sau xử lý siêu âm có ảnh hưởng lớn

đến hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết. Nhiệt độ ngâm chiết cho hiệu quả chiết xuất (hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết) cao nhất là 60°C.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ ngâm chiết đến quá trình trích ly

Nhiệt độ ngâm chiết, °C	Hiệu suất trích ly, %	Hàm lượng saponin trong cao chiết, mg/g
40	21,39 ± 0,20	73,4 ± 0,7
50	23,85 ± 0,23	74,0 ± 0,9
60	27,16 ± 0,26	75,1 ± 0,8
70	27,54 ± 0,24	74,9 ± 1,0
80	27,98 ± 0,27	74,8 ± 0,9

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian ngâm chiết đến quá trình trích ly

Thời gian ngâm chiết, phút	Hiệu suất trích ly, %	Hàm lượng saponin trong cao chiết, mg/g
40	27,16 ± 0,26	75,1 ± 0,8
50	28,25 ± 0,28	75,6 ± 0,7
60	29,53 ± 0,25	76,3 ± 1,0
70	29,89 ± 0,29	75,4 ± 0,9
80	30,07 ± 0,31	75,2 ± 0,6

Bảng 7 cho thấy, thời gian ngâm chiết cũng có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết. Thời gian ngâm chiết thích hợp nhất là 60 phút vì khi thời gian tăng thêm (70 - 80 phút) hiệu suất trích ly tăng không đáng kể, trong khi hàm lượng saponin trong cao chiết có phần giảm xuống. Điều này chứng tỏ khi tăng thêm thời gian ngâm chiết (hơn 60 phút) lượng hoạt chất saponin trong cao chiết không tăng hoặc tăng không đáng kể mà chỉ nhận thêm các chất tan không mong muốn khác.

Bảng 6 và 7 cho thấy, sự cần thiết của quá trình ngâm chiết sau khi trích ly với hỗ trợ siêu âm vì cả hiệu suất trích ly và hàm lượng saponin trong cao chiết đều được tăng khá lớn.

3.3. Tối ưu hóa quá trình chiết xuất saponin và các hoạt chất từ lá chè Thạch Châu hoa vàng

3.3.1. Thiết lập mô hình và kiểm định ý nghĩa thống kê

Trên cơ sở kết quả khảo sát xử lý nguyên liệu, lựa chọn dung môi trích ly và ảnh hưởng của các thông số công nghệ (đơn yếu tố) đến quá trình chiết xuất saponin và các hoạt chất từ lá chè Thạch Châu hoa vàng, lựa chọn 3 thông số quan trọng (có ảnh hưởng lớn đến quá trình chiết suất) bao gồm: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A), thời gian xử lý siêu âm (B) và nhiệt độ ngâm chiết (C) để nghiên cứu tối ưu. Quá trình tối ưu hóa này được thực nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm với các biến đầu vào là: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 14/1 - 18/1 ml/g, thời gian xử lý siêu âm 20 - 30 phút và nhiệt độ ngâm chiết 50 - 70°C; các thông số khác của quá trình được duy trì cố định như: Độ ẩm nguyên liệu: 12%, kích thước nguyên liệu: 1 mm < d ≤ 2 mm, dung môi trích ly: Ethanol 70%V, số lần chiết: 2 lần, thời gian ngâm chiết: 60 phút. Các thông số đầu ra của quá trình trích ly là hiệu suất trích ly Y1 (%) và hàm lượng saponin trong cao chiết Y2 (mg/g).

Qui hoạch thực nghiệm được thiết lập theo mô hình Box Behnken với 3 yếu tố đầu vào, 2 hàm mục tiêu và 3 nghiệm thức tại tâm. Kết quả thực nghiệm được trình bày trong bảng 8.

Bảng 8. Ma trận thiết kế thí nghiệm và kết quả thực nghiệm đa yếu tố

STT	Run	A: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (ml/g)	B: Thời gian xử lý siêu âm (phút)	C: Nhiệt độ ngâm chiết (C)	Y ₁ : Hiệu suất trích ly (%)	Y ₂ : Hàm lượng Saponin của cao chiết (mg/g)
9	1	16 (0)	20 (-1)	50 (-1)	24,29	73,2
12	2	16 (0)	30 (+1)	70 (+1)	30,62	75,8
6	3	18 (+1)	25 (0)	50 (-1)	26,55	75,4
4	4	18 (+1)	30 (+1)	60 (0)	30,4	76,5
7	5	14 (-1)	25 (0)	70 (+1)	26,78	74,1
5	6	14 (-1)	25 (0)	50 (-1)	23,53	73,0
8	7	18 (+1)	25 (0)	70 (+1)	30,81	76,6
1	8	14 (-1)	20 (-1)	60 (0)	23,59	73,2
14	9	16 (0)	25 (0)	60 (0)	29,54	76,2
3	10	14 (-1)	30 (+1)	60 (0)	26,43	74,4
13	11	16 (0)	25 (0)	60 (0)	29,61	76,3
10	12	16 (0)	30 (+1)	50 (-1)	26,44	74,5
2	13	18 (+1)	20 (-1)	60 (0)	27,16	75,7
15	14	16 (0)	25 (0)	60 (0)	29,48	76,5
11	15	16 (0)	20 (-1)	70 (+1)	27,37	74,0

Áp dụng phân tích hồi qui bậc hai đa biến đối với các hàm mục tiêu Y₁ và Y₂ dựa trên các dữ liệu thực nghiệm trên phần mềm Design Expert 13.

Sự tương thích và có nghĩa của các mô hình được kiểm tra qua kết quả các hệ số tương quan R² và độ chính xác phù hợp “Adeq Precision” (Bảng 9) và phân tích ANOVA (Bảng 10).

Bảng 9. Kết quả phân tích sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm

Hiệu suất trích ly (%)		Hàm lượng saponin trong cao chiết (mg/g)	
Độ lệch chuẩn = 0,1443	R ² = 0,9988	Độ lệch chuẩn = 0,2070	R ² = 0,9912
Giá trị trung bình = 27,51	R ² = 0,9966	Giá trị trung bình = 75,03	R ² = 0,9759
Hệ số biến thiên % = 0,245	R ² = 0,9822	Hệ số biến thiên % = 0,2759	R ² = 0,8857
	Độ chính xác của Adeq = 62,3044		Độ chính xác của Adeq = 21,5997

Bảng 10. Kết quả phân tích ANOVA tối ưu hóa quá trình trích ly

Nguồn biến	Hiệu suất trích ly (%)			Hàm lượng saponin trong cao chiết (mg/g)		
	Bình phương trung bình	Giá trị F	Giá trị p (Prob>F)	Bình phương trung bình	Giá trị F	Giá trị p (Prob>F)
Mô hình	9,63	462,76	< 0,0001-có ý nghĩa	2,68	62,66	0,0001- có ý nghĩa

A	26,61	1278,13	< 0,0001	11,28	263,38	< 0,0001
B	16,47	791,31	< 0,0001	3,25	75,90	0,0003
C	27,27	1309,86	< 0,0001	2,42	56,50	0,0007
AB	0,0400	1,92	0,2243	0,0400	0,9339	0,3782
AC	0,2550	12,25	0,0173	0,0025	0,0584	0,8187
BC	0,3025	14,53	0,0125	0,0625	1,46	0,2811
A ²	7,82	375,69	< 0,0001	0,8926	20,84	0,0060
B ²	5,25	252,39	< 0,0001	2,94	68,54	0,0004
C ²	5,06	242,96	< 0,0001	4,20	98,08	0,0002
Phần dư	0,0208			0,0428		
Sự không phù hợp	0,0319	7,53	0,1195 - không có ý nghĩa	0,0558	2,39	0,3083 - không có ý nghĩa
Sai số ngẫu nhiên	0,0042			0,0233		

Giá trị F của hai mô hình lần lượt là: 462,76 (Y₁) và 62,66 (Y₂) chỉ ra cả hai mô hình hồi qui có ý nghĩa thống kê cao với độ tin cậy 99,99% ($p < 0,0001$). Chuẩn F cho “sự không tương thích” của mô hình Y₁ là 7,53 ($p = 0,1195$), của mô hình Y₂ là 2,39 ($p = 0,3083$) cho thấy, sự không tương thích của mô hình là không đáng kể do bởi sai số thô tương đối.

Hệ số tương quan bội R² của mô hình Y₁ và Y₂ lần lượt là 0,9988 và 0,9912 chứng tỏ mô hình Y₁ mô tả đến 99,88%, mô hình Y₂ mô tả đến 99,12% sự thay đổi của hàm mục tiêu phụ thuộc vào các biến ảnh hưởng, chỉ 0,22 - 0,88% sự thay đổi là không được diễn tả bởi mô hình. Trong trường hợp, mô hình có nhiều số hạng và kích thước mẫu không đủ lớn thì hệ số tương quan hiệu chỉnh “Adj R²” nhỏ hơn đáng kể so với hệ số tương quan dự đoán “Pred R²”. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, hệ số dự đoán “Pred R²” của cả hai mô hình đều có giá trị gần bằng với hệ số hiệu chỉnh “Adj R²” (Bảng 9). Điều đó chứng tỏ cả hai mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm. Ngoài ra, hệ số biến

thiên C.V. của cả hai mô hình đều thấp (C.V.% = 0,245 với Y₁, C.V.% = 0,2759 với Y₂) biểu thị rõ sự sai lệch giữa giá trị thực nghiệm về hiệu suất trích ly, hàm lượng saponin trong cao chiết với các giá trị dự đoán theo mô hình là rất thấp; nó không chỉ cho thấy độ chính xác cao mà còn đem lại sự tin cậy lớn đối với thực nghiệm đã đưa ra. Độ chính xác phù hợp “Adeq Precision” của mô hình Y₁ là 62,3044 và của mô hình Y₂ là 21,5997 chứng tỏ tín hiệu đầy đủ và khẳng định hai mô hình này có ý nghĩa cao đối với quá trình trích ly các chất tan từ lá trà Thạch Châu hoa vàng.

Sự có nghĩa của mỗi hệ số hồi qui trong mô hình Y₁, Y₂ được đánh giá dựa trên chuẩn F và giá trị p (Bảng 10). Kết quả cho thấy, các hệ số hồi qui của Y₁ đều có ý nghĩa thống kê cao ở mức $p < 0,05$ (ngoại trừ hệ số chéo AB); 6 hệ số hồi quy của mô hình Y₂ có ý nghĩa thống kê cao ở mức $p < 0,05$ và 3 hệ số hồi quy của mô hình Y₂ có $0,1 < p < 0,9$ thể hiện không có ý nghĩa thống kê nên có thể loại bỏ hệ số chéo AB của mô hình Y₁ và 3 hệ số chéo AB, BC, AC khỏi mô hình Y₂ mà không ảnh hưởng đến

kết quả tối ưu của mô hình. Điều này cho phép kết luận rằng tất cả các yếu tố tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A), thời gian xử lý siêu âm (B), nhiệt độ ngâm chiết (C) và sự tương tác của cặp các yếu tố trên đến hiệu suất trích ly Y_1 có mức ý nghĩa cao, ngoại trừ tương tác của cặp yếu tố tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A) và thời gian xử lý siêu âm (B) đến hiệu suất trích ly Y_1 có ý nghĩa thấp. Đồng thời, các đơn yếu tố tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A), thời gian xử lý siêu âm (B) và nhiệt độ ngâm chiết (C) đều ảnh hưởng đến hàm lượng saponin trong cao chiết Y_2 với mức ý nghĩa cao nhưng tương tác của cặp đơn yếu tố đó đến Y_2 có mức ý nghĩa thấp.

Hàm mục tiêu Y_1 và Y_2 được biểu diễn bởi các phương trình bậc hai theo các biến mã (1), (2) như sau:

$$Y_1 = 29,54 + 1,82A + 1,43B + 1,85C + 0,2525AC + 0,275BC - 1,46A^2 - 1,19B^2 - 1,17C^2 \quad (1)$$

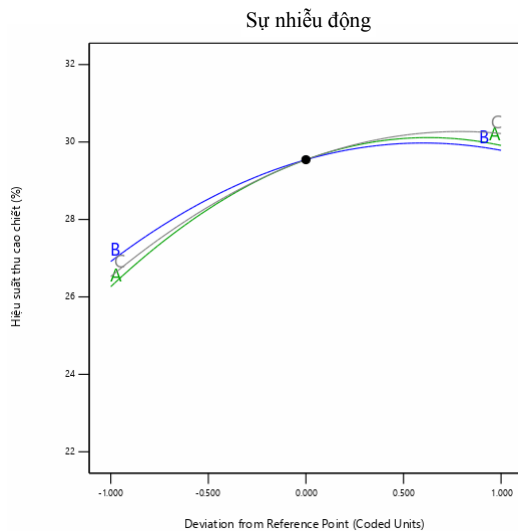
$$Y_2 = 76,33 + 1,19A + 0,6375B + 0,55C - 0,4917A^2 - 0,8917B^2 - 1,07C^2; \quad (2)$$

Hoặc viết theo biến thực (1'), (2')

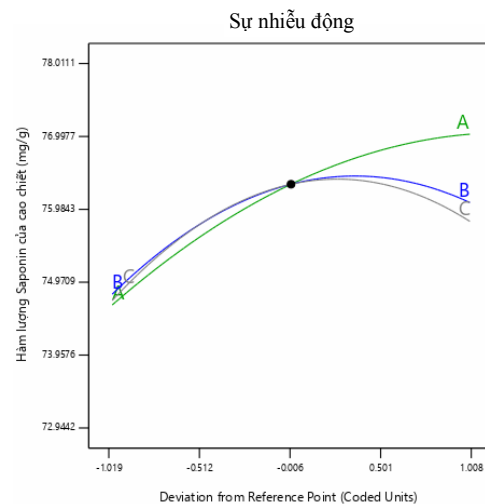
$$Y_1 = -144,03375 + 11,54771Z_1 + 2,18283Z_2 + 1,24963Z_3 + 0,012625Z_1Z_3 + 0,0055Z_2Z_3 - 0,363854Z_1^2 - 0,047717Z_2^2 - 0,011704Z_3^2; \quad (1')$$

$$Y_2 = -31,8125 + 4,52708Z_1 + 1,91083Z_2 + 1,335Z_3 - 0,122917Z_1^2 - 0,035667Z_2^2 - 0,010667Z_3^2; \quad (2')$$

Xét ảnh hưởng của từng yếu tố (khi các yếu tố khác giữ ở mức trung bình) đến quá trình trích ly cho thấy: Đối với hiệu suất trích ly, nhiệt độ ngâm chiết (C) có ảnh hưởng mạnh nhất (đường cong C dốc nhất), tiếp đó đến tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A) và thời gian xử lý siêu âm (B) có tác động ảnh hưởng yếu nhất (đường cong B phẳng hơn); đối với hàm lượng saponin của cao chiết, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (A) có tác động ảnh hưởng mạnh nhất (đường cong dốc và tiếp tục tăng về phía phải chứng tỏ khi tăng A thì hàm lượng saponin tăng mạnh), tiếp đó đến thời gian xử lý siêu âm (B) và nhiệt độ ngâm chiết (C) có tác động ảnh hưởng thấp nhất, có xu hướng làm giảm hàm lượng saponin nếu vượt ngưỡng tối ưu (Hình 1).



Độ lệch so với điểm tham chiếu (đơn vị biến mã)



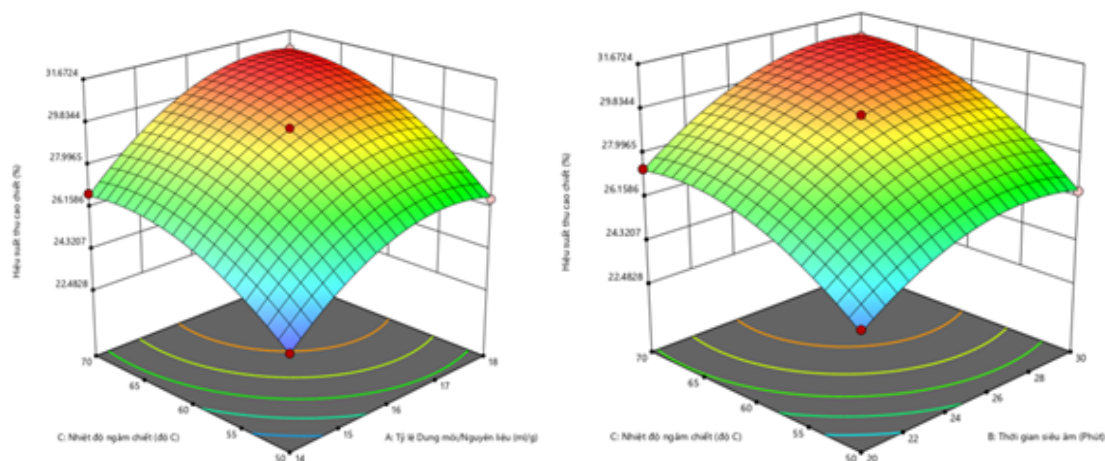
Độ lệch so với điểm tham chiếu (đơn vị biến mã)

Hình 1. Ảnh hưởng của các yếu tố A, B, C đến hiệu suất TL và hàm lượng saponin của cao chiết

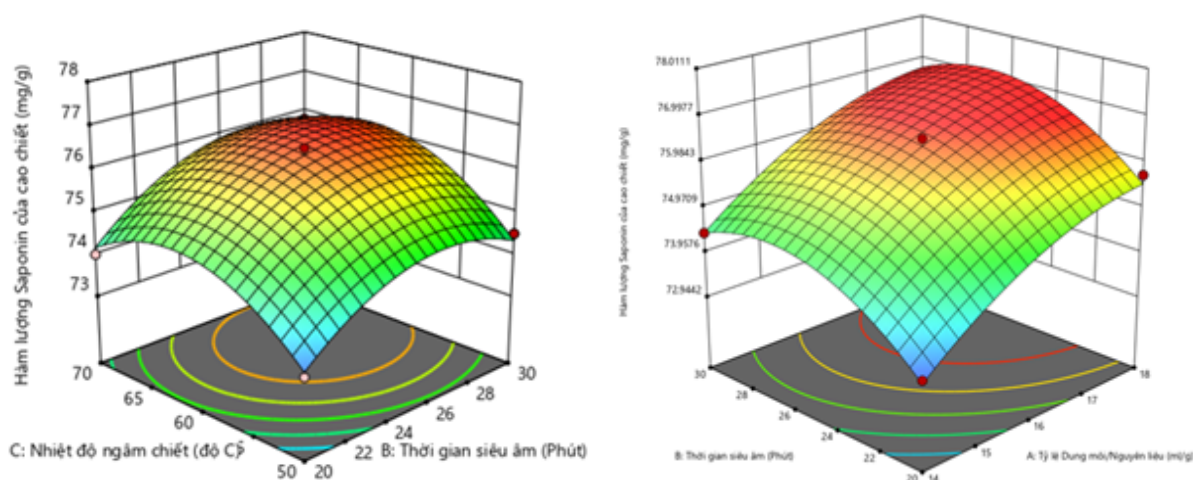
Ảnh hưởng tương tác giữa các cặp yếu tố này đến quá trình trích ly sẽ được minh họa rõ ràng khi quan sát trên các bề mặt đáp ứng Y_1 , Y_2 (Hình 2, 3).

Kết quả cho thấy, đối với hàm mục tiêu hiệu suất trích ly, tác động tương tác A-C và B-C là đáng kể đối với hàm mục tiêu và cần tối ưu đồng thời cả

hai cặp thông số này để đạt hiệu suất cao nhất. Đối với, hàm mục tiêu hàm lượng saponin của cao chiết, chỉ có cặp yếu tố AB có ảnh hưởng nhất định đến hàm mục tiêu. Điều này cũng phù hợp với kết quả phân tích ANOVA về mức độ có ý nghĩa của các hệ số hồi quy của hàm mục tiêu trong mô hình Y_1 , Y_2 .



Hình 2. Bề mặt đáp ứng của cặp yếu tố (A, C) và (B, C) ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y1



Hình 3. Bề mặt đáp ứng của cặp yếu tố (A, B) và (B, C) ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y2

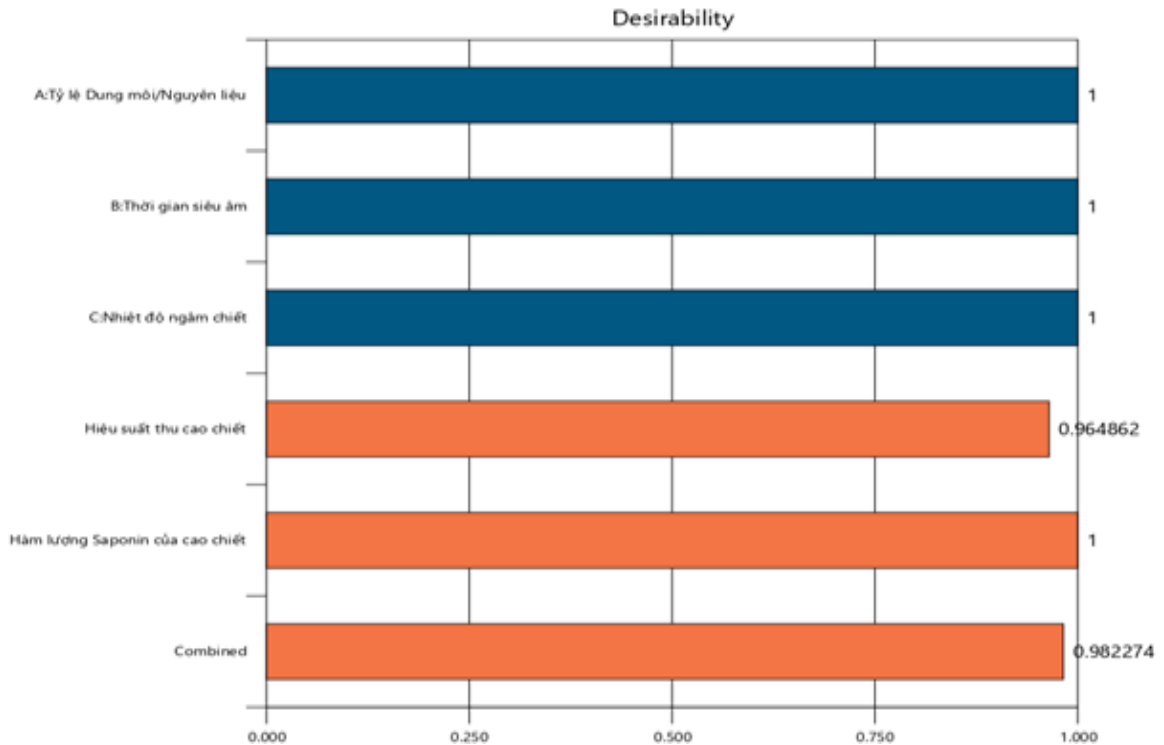
3.3.2. Tối ưu hóa và kiểm chứng mô hình

Quá trình chiết suất nhằm đạt mục tiêu hiệu suất trích ly lớn nhất và hàm lượng saponin trong cao chiết đạt cực đại. Giải bài toán tối ưu bằng phương pháp chấp nhận mục tiêu theo thuật toán hàm

mong đợi trên phần mềm Design Expert 13 với các hệ số quan trọng của Y_1 và Y_2 là 5, các yếu tố ảnh hưởng A, B, C là 3 và để thuận lợi cho việc điều khiển nhiệt độ của quá trình ngâm chiết, đã lựa chọn thông số C tiến tới 60 (Bảng 11).

Bảng 11. Điều kiện của các biến và hàm mục tiêu mong đợi

Các biến và hàm mục tiêu	Mục tiêu	Giới hạn dưới	Giới hạn trên	Hệ số quan trọng
A: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (ml/g)	Trong khoảng giới hạn	14	18	3/5
B: Thời gian xử lý siêu âm (phút)	Trong khoảng giới hạn	20	30	3/5
C: Nhiệt độ ngâm chiết (°C)	60	50	70	3/5
Hiệu suất trích ly (%)	Cực đại	23,53	30,81	5/5
HL Saponin của cao chiết (mg/g)	Cực đại	73	77	5/5



Hình 4. Mức độ đáp ứng mong đợi của quá trình tối ưu hóa trích ly thu cao chiết

Bảng 12. Giá trị dự đoán và thực nghiệm các hàm mục tiêu ở điều kiện tối ưu

Đáp ứng	Điều kiện trích ly tối ưu			Giá trị lớn nhất	
	Tỷ lệ DM/NL	Thời gian xử lý siêu âm	Nhiệt độ ngâm chiết	Thử nghiệm	Dự đoán theo mô hình
Hiệu suất trích ly, %	17,5 ml/g	27,5 phút	60°C	30,48 ± 0,02	30,55
HL Saponin của cao chiết, mg/g				77,05 ± 0,09	77,01

Khi đó, phương án tối ưu xác định được là: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 17,501 ml/g; thời gian siêu âm 27,585; nhiệt độ ngâm chiết là 60°C. Hàm mục tiêu hiệu suất thu cao chiết đạt 30,55%, hàm lượng saponin của cao chiết 77,0 mg/g.

Với điều kiện tối ưu đó, các mục tiêu mong đợi của mô hình hiệu suất thu cao chiết Y_1 , hàm lượng saponin của cao chiết Y_2 lần lượt đạt 96,4862% và 100%, với mục tiêu kết hợp đạt 98,2274% mong muốn nằm trong miền thực nghiệm (Hình 4).

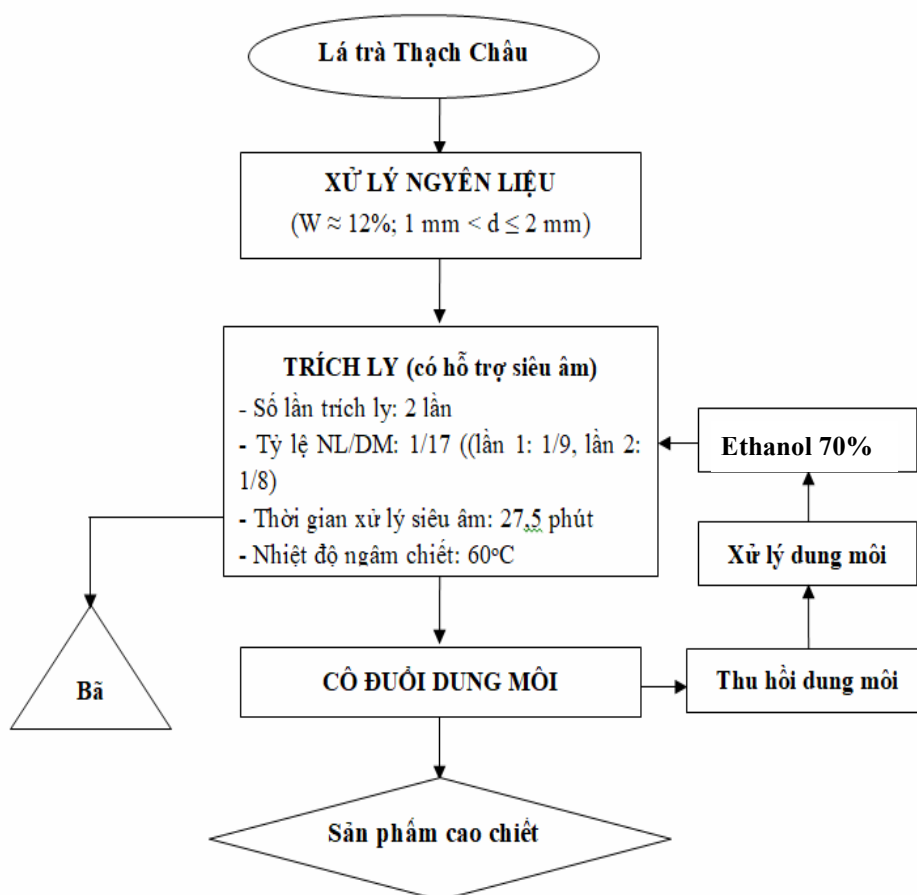
Để thuận lợi cho quá trình làm thực nghiệm, đã lựa chọn các thông số của quá trình trích ly là: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 17,5 ml/g; thời gian siêu âm 27,5 phút; nhiệt độ ngâm chiết là 60°C. Tiến hành thực nghiệm để kiểm chứng lại kết quả của mô hình với 3 lần thí nghiệm

thu được kết quả ở bảng 12.

So sánh giữa các giá trị trung bình giữa thực nghiệm và dự đoán trên mô hình về kết quả của 2 hàm mục tiêu cho thấy sự khác biệt giữa thực nghiệm và dự đoán phần mềm là không có nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tóm lại, mô hình tối ưu hóa đã xây dựng là hoàn toàn phù hợp với thực tế sản xuất.

3.4. Xây dựng quy trình công nghệ chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng

Từ các kết quả nghiên cứu được trình bày ở trên, đã đưa ra được quy trình công nghệ chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng, được trình bày ở hình 5 (có thuyết minh quy trình kèm theo).



Hình 5. Sơ đồ quy trình công nghệ chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng

Thuyết minh quy trình công nghệ

- *Xử lý nguyên liệu:* Lá trà Thạch Châu sau khi thu hái được rửa sạch rồi phơi hoặc sấy khô đến độ ẩm khoảng 12% (Nếu chưa đưa ngay vào trích ly thì bảo quản trong túi PE kín, để ở nơi thoáng mát). Trước khi trích ly nguyên liệu sau khi sấy được đem đi xay với kích thước $1\text{ mm} < d \leq 2\text{ mm}$.

- *Công đoạn trích ly (có hỗ trợ siêu âm):* Cân 100 g nguyên liệu lá trà Thạch Châu đã được xử lý cùng 1.000 ml dung môi ethanol 70% cho vào bình trích ly. Đặt bình trích ly vào thiết bị siêu âm rồi cho thiết bị siêu âm chạy trong thời gian 27,5 phút. Sau đó, lấy bình trích ly ra khỏi thiết bị siêu âm và đặt nó vào thiết bị ổn nhiệt với nhiệt độ khoảng 60°C trong thời gian 60 phút để thực hiện quá trình ngâm chiết. Sau thời gian ngâm chiết, dịch trích ly được lọc tách riêng ra, bã trích ly được cho lại vào bình trích ly cùng 180 ml dung môi ethanol 70% để trích ly lần hai với các bước và các điều kiện công

nghệ giống như lần 1. Gộp dịch trích ly lần 1 và lần 2 lại để đưa sang công đoạn cô đuổi dung môi.

- *Cô đuổi dung môi:* Dịch trích ly được cô đuổi dung môi ở thiết bị cô quay chân không cho đến cạn kiệt ở áp suất thấp sẽ thu được sản phẩm cao chiết giàu saponin và các hoạt chất thiên nhiên. Dung môi thu hồi được xử lý và được sử dụng lại ở quá trình trích ly tiếp theo. Bã trích ly được sử dụng cho các mục đích khác.

3.5. Phân tích chất lượng sản phẩm cao chiết giàu saponin và các hoạt chất thiên nhiên và ứng dụng cho sản xuất đồ uống hòa tan

Sản phẩm cao chiết giàu saponin và các hoạt chất thiên nhiên thu được từ quá trình trích ly lá trà Thạch Châu hoa vàng được đem phân tích cảm quan, độ ẩm và hàm lượng các hoạt chất chính như: Saponin tổng, polyphenol tổng và flavonoid tổng nhằm đánh giá chất lượng sản phẩm cao chiết cũng như đánh giá sự phù hợp của sản phẩm cao chiết đối với sản xuất đồ uống hòa tan. Kết quả phân tích được trình bày trong bảng 13.

Bảng 13. Kết quả phân tích chất lượng cao chiết từ lá trà Thạch Châu hoa vàng

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị đo	Kết quả
1	Cảm quan		Cao khô có màu sẫm và có mùi vị đặc trưng của lá trà Thạch Châu hoa vàng
2	Độ ẩm	%	1,25 ± 0,2
3	Hàm lượng saponin tổng	mg/g	76,8 ± 1,24
4	Hàm lượng polyphenol tổng	mg/g	255,7 ± 1,66
5	Hàm lượng flavonoid tổng	mg/g	284,2 ± 2,07

Từ kết quả phân tích thu được (Bảng 13) cho thấy sản phẩm cao chiết có chất lượng tốt, giàu hoạt chất saponin (76,8 mg/g) đồng thời còn chứa hàm lượng các hợp chất chống oxy hóa cao là polyphenol và flavonoid (255,7 mg/g và 284,2 mg/g). Ngoài ra, sản phẩm cao chiết khô (độ ẩm khoảng 1,2%) dễ bảo quản và có mùi vị đặc trưng của lá trà Thạch Châu hoa vàng nên hoàn toàn phù hợp và đảm bảo yêu cầu cho sản xuất đồ uống hòa tan.

Đã thử nghiệm sản xuất đồ uống hòa tan từ sản phẩm cao chiết này ở quy mô phòng thí nghiệm với hai dạng: Dạng bột mịn (sử dụng phương pháp sấy phun) và dạng Cốm (sử dụng phương pháp sấy lạnh). Kết quả ban đầu cho thấy cả hai dạng sản phẩm đồ uống hòa tan có hương vị hài hòa, mùi thơm đặc trưng của lá trà Thạch Châu hoa vàng, được Hội đồng đánh giá cảm quan chấm đạt loại tốt.

4. KẾT LUẬN

Lá trà Thạch Châu hoa vàng (loại lá già) chứa hàm lượng các hoạt chất saponin, polyphenol và flavonoid lần lượt là: 4,90, 18,62 và 20,59 (mg/g nguyên liệu khô) đã được nghiên cứu chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên với công nghệ trích ly có hỗ trợ siêu âm kết hợp với ngâm chiết (sau xử lý siêu âm). Trên cơ sở kết quả khảo sát xử lý nguyên liệu, lựa chọn dung môi trích ly và ảnh hưởng của các thông số công nghệ (đơn yếu tố) đến quá trình chiết xuất saponin và các hoạt chất từ lá chè Thạch Châu hoa vàng, 3 thông số quan trọng đã được lựa chọn gồm: Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, thời gian xử lý siêu âm và nhiệt độ ngâm chiết để nghiên cứu tối ưu. Quá trình tối ưu hóa này được thiết lập thực nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm theo mô hình Box Behnken với 3 yếu tố đầu vào, 3 thí nghiệm tại tâm và 2 hàm

mục tiêu là hiệu suất trích ly Y1 (%) và hàm lượng saponin trong cao chiết Y2 (mg/g). Từ đó, đã xây dựng được quy trình công nghệ chiết xuất saponin và các hoạt chất thiên nhiên từ lá trà Thạch Châu hoa vàng với hiệu suất trích ly đạt khoảng 30% so với nguyên liệu khô. Sản phẩm cao chiết có có mùi vị đặc trưng của lá trà Thạch Châu hoa vàng, giàu hoạt chất saponin (76,8 mg/g) đồng thời còn chứa hàm lượng các hợp chất chống oxy hóa cao là polyphenol và flavonoid (255,7 mg/g và 284,2 mg/g). sản phẩm cao chiết này đã bước đầu được thử nghiệm ứng dụng cho sản xuất đồ uống hòa tan ở quy mô phòng thí nghiệm với hai dạng: Dạng bột mịn (sử dụng phương pháp sấy phun) và dạng Cốm (sử dụng phương pháp sấy lạnh).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2000). *Cây cỏ Việt Nam*, Nxb Trẻ, Hà Nội, 1, 420 - 424.
2. Dương Thị Hảo (2016). Nghiên cứu về thực vật, thành phần hóa học và tác dụng chống oxy hóa của cây Thạch Châu (*Pyrenaria* sp.) họ Chè (Theaceae), Luận văn Thạc sỹ Dược học, Trường Đại học Dược Hà Nội.
3. L. Ge, *et al.* (2018), Composition and antioxidant and antibacterial activities of essential oils from three yellow Camellia species, *Trees*, 33, 205 - 212.
4. L. Cui-yun, *et al.* (2007), Impact of leaves and flowers of camellia chrysantha (Hu) tuyama of different concentrations on Diethylnitrosaminal-induced precancerous lision to liver of rat and hepatoma cells BEL-7404, *Journal of Guangxi Medical University*, 24, 660 - 663.
5. Võ Thiên Nhi (2023). Nghiên cứu thành phần và hoạt tính sinh học lá trà Thạch Châu hoa vàng (*Pyrenaria jonquieriana* P.), định hướng bào chế thực phẩm chức năng, Luận văn Thạc sỹ,

Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

6. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5610:2007. Chè - Xác định hàm lượng chất chiết trong nước.

7. Yadav, R. N. S., Agarwal. (2011), Phytochemical analysis of some medicinal plants, *Journal of Phytology*, 3(12), 10 - 14.

8. Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M., Chern

J. C (2002), Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178 - 182.

9. Ahmed H. O. A. (2015). Determination of tea saponin in Camellia seed oil with UV and HPLC analysis. *World Journal of Engineering and Technology*, 3, 30.

STUDY ON SAPONINS EXTRACTING AND NATURAL ACTIVE SUBSTANCES FROM THACH CHAU GOLDEN TEA LEAVES (*Pyrenaria jongquieriana* P.) FOR INSTANT BEVERAGE PRODUCTION

Bui Quang Thuat¹, Dang Thi Thanh Quyen², Do Thi Kim Loan², Bui Thi Bich Ngoc¹

¹ *Food Industries Research Institute (FIRI)*

² *University of Economics and Technology for Industries (UNETI),*

Ministry Industry and Trade

Abstract

In recent years, the trend of using natural active ingredients from plants in the processing of soft drinks has become increasingly popular because consumers tend to prefer to use safe, healthy and natural products. A series of beverage products using extracts (squeezed) from perilla, strawberries, aloe vera, ginger, basil, green tea leaves, carrots, etc. have been born and welcomed by consumers. One of the plants that is interested in research and use for the beverage industry is the Thach Chau golden flower tea tree (*Pyrenaria jongquieriana* P.) because its leaves contain many valuable active ingredients such as saponin, polyphenol and flavonoid. In this article, we discuss the research on the extraction technology (with ultrasound support) of saponin and natural active ingredients from Thach Chau golden flower tea leaves to obtain extracts for application in the production of instant beverages. From the results of the study on the single-factor influence of technological parameters on the extraction process of active ingredients, we optimized the extraction process using the response surface methodology according to the Box Behnken model with 3 input factors (solvent/raw material ratio; ultrasonic time and extraction temperature) and 2 objective functions: Extraction efficiency and saponin content in the extract. Design Expert software version 13 was used for regression analysis, establishing polynomial degrees representing the relationship between independent variables and dependent variables. From the results obtained, we proposed a technological process for extracting saponin and natural active ingredients from Thach Chau golden flower tea leaves with an extraction efficiency of about 30% (compared to dry materials). The extract product is rich in active substances with saponin, polyphenol and flavonoid contents of 76.8 ± 1.24 , 255.7 ± 1.66 and 284.2 ± 2.07 mg/g, respectively. The extract also has the characteristic aroma of Thach Chau golden flower tea leaves, completely meeting the quality requirements for raw materials for the production of instant drinks.

Keywords: *Thach Chau golden flower tea, natural active ingredients, extraction, optimization, response surface methodology (RSM).*

Ngày nhận bài: 15/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 5/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 15/7/2025

Ngày duyệt đăng: 30/7/2025

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT BỘT DINH DƯỠNG ĂN LIỀN TỪ HẠT TAM GIÁC MẠCH THU HOẠCH TẠI TỈNH HÀ GIANG

Đặng Hồng Ánh^{1,*}, Nguyễn Thu Vân¹, Giang Thế Việt¹,

Phạm Ngọc Thái¹, Trần Bảo Trâm²

¹ Bộ môn Công nghệ chế biến Nông sản và Đồ uống, Viện Công nghiệp Thực phẩm

² Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng công nghệ

*Email: anhdh@firi.vn

TÓM TẮT

Tam giác mạch (*Fagopyrum esculentum*) là một loại cây có giá trị dinh dưỡng cao, không chứa gluten, giàu protein, chất xơ và hợp chất chống oxy hóa. Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình sản xuất bột dinh dưỡng ăn liền từ tam giác mạch bằng công nghệ ép đùn. Công thức phối trộn nguyên liệu bao gồm 85% hạt tam giác mạch, 5% gạo tẻ, 5% đậu xanh và 5% đậu tương. Quá trình ép đùn được thực hiện ở nhiệt độ 160°C, độ ẩm nguyên liệu 15% và tốc độ trục ép 200 vòng/phút - đây là các điều kiện thích hợp để thu được phôi có hệ số giãn nở cao, mật độ khối và độ bền phá vỡ thấp. Phôi sau ép đùn có màu trắng ngà, mùi thơm đặc trưng của tam giác mạch, được tiếp tục xử lý bằng phương pháp nghiền trục để tạo ra bột thành phẩm đồng nhất. Sản phẩm hoàn thiện được đánh giá đạt yêu cầu về cảm quan, thành phần dinh dưỡng (protein, lipid, chất xơ), vi sinh vật và an toàn vệ sinh thực phẩm. Sau 6 tháng bảo quản trong túi nilon được hút chân không, các chỉ tiêu chất lượng vẫn ổn định. Kết quả nghiên cứu góp phần khẳng định tiềm năng ứng dụng của công nghệ ép đùn trong chế biến thực phẩm từ nguyên liệu bản địa như hạt tam giác mạch tỉnh Hà Giang.

Từ khóa: Bột dinh dưỡng ăn liền, ép đùn, tam giác mạch.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thành phần hóa học của hạt tam giác mạch cho thấy, đây là nguồn nguyên liệu quý giàu tinh bột (59 - 70%), trong đó hàm lượng amylose dao động từ 15 - 52% [1]. Ngoài ra, hạt còn chứa các loại đường khử, oligosaccharide, polysaccharide và các loại đường có khối lượng phân tử thấp như sucrose, glucose, arabinose và melibiose [2]. Đặc biệt, tam giác mạch cung cấp các vi chất quan trọng như Ca, Mg, Fe, P, Mn, Zn, cùng các vitamin nhóm B và E có lợi cho chuyển hóa tế bào và sức khỏe tim mạch [3].

Protein trong tam giác mạch dao động từ 7 - 21%, giàu lysine (~6%) và chủ yếu thuộc nhóm globulin [4]. Tuy nhiên, do chứa hàm lượng chất xơ cao (~17,8%), độ tiêu hóa protein của tam giác mạch thấp hơn so với một số thực phẩm khác, nhưng lại góp phần tạo nên giá trị sử dụng trong các chế độ ăn lành mạnh [4]. Bên cạnh đó, hàm lượng flavonoid cao - đặc biệt là rutin, quercetin và

các dẫn xuất của chúng - góp phần tăng cường hoạt tính chống oxy hóa và hỗ trợ điều trị các rối loạn mạch máu. Trong bối cảnh nhu cầu tiêu dùng thực phẩm dinh dưỡng tiện lợi ngày càng tăng, việc phát triển các sản phẩm từ tam giác mạch như bột dinh dưỡng ăn liền là hướng đi phù hợp. Bột uống liền từ hạt tam giác mạch không chỉ dễ sử dụng mà còn giữ được phần lớn giá trị dinh dưỡng và sinh học của nguyên liệu, đặc biệt khi kết hợp cùng các thành phần bổ sung như: Gạo, đậu xanh và đậu tương [5].

Ép đùn là công nghệ chế biến thông dụng dễ áp dụng tại các địa bàn vùng cao do chi phí đầu tư thiết bị không cao, có khả năng biến đổi cấu trúc nguyên liệu nhờ tác động đồng thời của nhiệt, ma sát, áp suất và lực cơ học, từ đó cải thiện độ mịn, độ xốp và tính hòa tan của sản phẩm. Tuy nhiên, hiệu quả của quá trình này phụ thuộc lớn vào các thông số vận hành như nhiệt độ, độ ẩm, tốc độ trục và tỷ lệ phối trộn [6]. Đặc biệt, việc kiểm soát

tối ưu các yếu tố này sẽ quyết định trực tiếp đến chất lượng cảm quan, khả năng bảo quản và giá trị dinh dưỡng của sản phẩm cuối cùng. Do đó, nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ chế biến bột dinh dưỡng ăn liền từ tam giác mạch bằng phương pháp ép đùn là cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn trong phát triển sản phẩm thực phẩm từ nguồn nguyên liệu bản địa giàu giá trị đặc biệt đối với vùng cao còn nhiều khó khăn như tỉnh Hà Giang.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

- Hạt tam giác mạch xát vỏ được thu nhận từ tỉnh Hà Giang.

- Gạo Jasmine 85, đỗ xanh ĐX 208, đỗ tương ĐT 34 được thu mua trên thị trường.

Các loại nguyên liệu bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp.

2.1.2. Thiết bị

- Máy ép đùn trục đơn KZM-2, tốc độ trục 300 vòng/phút, tỷ lệ chiều dài/đường kính trục L/D = 6,5, đường kính lỗ khuôn 12 mm.

- Các máy nghiền:

+ Nghiền cối đá (model SM-100; Xianlin Stone-Mill Co., Ltd., Zhangqiu, China).

+ Nghiền trục (model CDI; Xinfeng Flour Machinery Co., Ltd., Sishui, China).

+ Nghiền siêu mịn (model BFM-6B, Beili Powder Technology and Engineering Co., Ltd., Jinan, China).

- Các thiết bị phân tích:

+ Máy phân tích kích thước hạt bằng laser MS-2.000 laser analyzer (Malvern Instrument Ltd., Worcestershire, UK).

+ Máy đo lực vạn năng (model 1.000, hãng Instron Corp., Canton, MA).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Các điều kiện ép đùn

- *Nhiệt độ trục ép:* Được thử nghiệm ở ba mức nhiệt độ (120°C, 140°C, 160°C). Để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ trục ép đến chất lượng sản

phẩm ép đùn từ hạt tam giác mạch, thí nghiệm được thiết kế theo phương pháp cố định 3 điểm (three-level fixed-point design). Ba mức nhiệt độ được lựa chọn là:

+ 120°C: Đại diện cho mức nhiệt độ thấp, nhằm khảo sát khả năng tạo hình và độ trương nở khi mức năng lượng cung cấp còn hạn chế.

+ 140°C: Mức nhiệt độ trung bình, được chọn làm mức chuẩn (reference level) để so sánh xu hướng biến động của các chỉ tiêu.

+ 160°C: Mức nhiệt độ cao, giúp đánh giá tác động của nhiệt độ lớn đến quá trình gelatin hóa tinh bột, cấu trúc phối, độ giòn, độ trương nở và sự hình thành hương vị đặc trưng trong sản phẩm.

Việc lựa chọn ba mức nhiệt độ này dựa trên các nghiên cứu trước đây về ép đùn thực phẩm từ hạt ngũ cốc và giả ngũ cốc, cũng như khảo sát sơ bộ trong điều kiện thực tế thiết bị, đảm bảo phạm vi nhiệt độ đủ rộng để đánh giá xu hướng biến đổi của các chỉ tiêu chất lượng như: Hệ số nở, mật độ khối, độ bền phá vỡ, cảm quan của sản phẩm. Các thông số còn lại trong quá trình ép đùn như: Độ ẩm nguyên liệu (18%) và tốc độ trục ép (200 vòng/phút) được giữ cố định trong suốt quá trình thử nghiệm để đảm bảo tính đơn biến khi đánh giá ảnh hưởng riêng biệt của yếu tố nhiệt độ.

- *Độ ẩm nguyên liệu:* Điều chỉnh độ ẩm từ 12, 15, 18%. Nguyên liệu gồm hạt tam giác mạch, gạo tẻ, đậu xanh và đậu tương được phối trộn theo tỉ lệ xác định, sau đó được điều chỉnh độ ẩm về các mức mục tiêu là: 12, 15, 18% (tính theo khối lượng ướt). Quá trình điều chỉnh độ ẩm được thực hiện theo các bước sau:

- Xác định độ ẩm ban đầu của nguyên liệu phối trộn

- Tính toán lượng nước cần bổ sung dựa trên công thức:

$$W = \frac{(Mt - M0) \times G}{100 - Mt}$$

Trong đó: W là khối lượng nước cần bổ sung (g); Mt là độ ẩm mục tiêu (%), ví dụ: 12%, 15%, 18%; M0: Độ ẩm ban đầu của hỗn hợp nguyên liệu (%); G: Khối lượng hỗn hợp nguyên liệu khô (g).

- Phun sương lượng nước đã tính vào nguyên liệu, đồng thời trộn đều bằng máy trộn hoặc trộn thủ công trong túi PE lớn.

- Ủ kín hỗn hợp trong bao PE trong 6 - 8 giờ ở nhiệt độ phòng (25 - 30°C) để đảm bảo phân bố ẩm đều trong khối nguyên liệu.

- Tốc độ trục ép: Sử dụng ba mức tốc độ (100, 150, 200 và 250 vòng/phút).

- Nghiên cứu tỷ lệ nguyên liệu dùng cho ép đùn:

Nguyên liệu phối trộn	Tỷ lệ (% chất khô)			
	CT1	CT2	CT3	CT4
Tam giác mạch	85	85	85	85
Gạo tẻ	15	0	0	5
Đậu xanh	0	15	0	5
Đậu tương	0	0	15	5

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu ép đùn

Các mẫu phối ép đùn được xử lý bằng 3 phương pháp:

- Nghiền cối đá.
- Nghiền trục.
- Nghiền siêu mịn.

2.2.3. Chỉ tiêu phân tích

- Hệ số giãn nở: Được biểu thị bằng tỷ số giữa đường kính mặt cắt ngang của phối ép và đường kính mặt cắt ngang của đầu khuôn.

- Độ bền phá vỡ: Được đo bằng máy đo lực vạn năng (model 1.000, hãng Instron Corp., Canton, MA).

- Mật độ khối: Tỷ lệ khối lượng trên thể tích.

- Kích thước hạt được xác định bằng máy phân tích laser Mastersizer 2000 (Malvern, Anh).

- Chỉ số hòa tan trong nước theo phương pháp Anderson và cs (1969b) [7].

- Xác định hàm lượng ẩm: TCVN 14237-1:2024 (ISO 712-1:2024) [8].

- Xác định hàm lượng protein thô: TCVN 8125:2015 (ISO 20483:2013) [9].

- Xác định hàm lượng chất béo tổng số: TCVN 6555:2011 (ISO 11085:2008) [10].

- Xác định hàm lượng carbohydrate: TCVN 9935:2013 [11].

- Xác định hàm lượng chất xơ tổng số: TCVN 9050:2012 [12].

- Xác định hàm lượng gluten: TCVN 7871-1:2008 [13].

- Xác định hàm lượng các kim loại nặng Pb, Cd, As, Hg: TCVN 13646:2023 [14].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sử dụng phần mềm Microsoft Office Excel để xử lý số liệu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn công thức nguyên liệu cho bột dinh dưỡng ăn liền từ hạt tam giác mạch

Công thức phối trộn được tối ưu nhằm cân bằng giữa giá trị dinh dưỡng và cấu trúc của sản phẩm. Các tỷ lệ phối trộn giữa tam giác mạch và các nguyên liệu bổ sung như: Gạo, đậu xanh, đậu tương được thử nghiệm. Theo khuyến cáo, nhu cầu các chất dinh dưỡng cần thiết trong bột dinh dưỡng chiếm tỷ lệ % trên tổng nhu cầu năng lượng: Protein: 12 - 14%; lipid: 18 - 25%; glucit: 60 - 70% [5]. Thành phần dinh dưỡng của 4 nguyên liệu chính được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Thành phần dinh dưỡng các nguyên liệu

Nguyên liệu bổ sung	Thành phần dinh dưỡng trong 100 g			
	Glucit (g)	Protein (g)	Lipit (g)	Nước (g)
Tam giác mạch	72,12 ± 0,88	12,67 ± 0,41	3,52 ± 0,11	11,30 ± 0,36
Gạo tẻ	75,45 ± 0,74	8,17 ± 0,21	1,03 ± 0,05	13,89 ± 0,27
Đậu xanh	52,34 ± 0,97	23,62 ± 0,56	2,46 ± 0,08	14,21 ± 0,31
Đậu tương	27,32 ± 0,60	34,45 ± 0,79	18,52 ± 0,55	13,89 ± 0,29

Protein giúp tăng độ cứng, độ giòn một cách đáng kể. Lipit đóng vai trò như là chất bôi trơn để làm giảm năng lượng hoạt hóa cần thiết trong quá trình ép đùn và tạo độ xốp cho sản phẩm. Sự làm chín của quá trình ép đùn được biết là sự phá hủy cấu trúc hạt tinh bột và thậm chí còn làm đứt gãy liên kết α (1 - 4) và β (1 - 6) trong phân tử tinh bột [15]. Do tam giác mạch không chứa gluten nên sẽ không gây dị ứng cho người sử dụng tuy nhiên do không chứa gluten cũng ảnh hưởng đến quá trình ép đùn do thiếu sự kết dính nên đã sơ bộ khảo sát cho thấy, thành phần tam giác mạch tối đa có thể

dùng để ép đùn là 85%, khi vượt quá thì gây cháy khét và quá trình ép không thực hiện được. Với mong muốn tạo được sản phẩm bột ăn liền có hàm lượng tam giác mạch cao đã sử dụng tỷ lệ tam giác mạch là 85% trong nghiên cứu về tỷ lệ nguyên liệu.

Tỷ lệ nguyên liệu sử dụng trong các công thức thể hiện trong phần 2.2.1. Với các công thức phối trộn nguyên liệu đưa ra thì chất lượng của phôi ép được đánh giá thông qua các chỉ tiêu: Độ ẩm, hàm lượng glucit, protein, lipid, chất lượng cảm quan (độ phồng nở và chín của phôi ép, màu sắc, mùi, vị). Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng và cảm quan của phôi ép

Công thức	Hàm lượng dinh dưỡng (%)				Chất lượng cảm quan
	Nước	Gluxit	Protein	Lipid	
CT1	13,83 ± 0,25	65,56 ± 1,41	10,89 ± 0,25	7,23 ± 0,06	Phôi nở đều, màu trắng hơi nâu, ít thơm
CT2	14,15 ± 0,47	60,28 ± 1,03	13,47 ± 0,52	7,59 ± 0,18	Phôi không đều, màu vàng hơi nâu, ít thơm
CT3	13,68 ± 0,46	56,46 ± 0,59	15,07 ± 0,47	9,89 ± 0,27	Phôi không đều, màu vàng, hơi có mùi cháy khét
CT4	15,47 ± 0,23	60,16 ± 0,46	13,13 ± 0,34	8,52 ± 0,17	Phôi đều, màu trắng ngà, mùi thơm đặc trưng của tam giác mạch và đậu

Sản phẩm với công thức CT4 hạt tam giác mạch 85%, gạo tẻ 5%, đậu xanh 5%, và đậu tương 5% được đánh giá cao nhất.

3.2. Nghiên cứu các thông số công nghệ của quá trình ép đùn

3.2.1. Hệ số giãn nở và mật độ khối

Tỷ lệ giãn nở biểu thị mức độ giãn nở của phôi ép, thường được biểu thị bằng tỷ số giữa đường kính mặt cắt ngang của phôi ép và đường kính mặt

cắt ngang của đầu khuôn. Các yếu tố như: Nhiệt độ, áp suất, độ ẩm, thành phần nguyên liệu có thể ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ giãn nở của phôi ép đùn.

Mật độ khối biểu thị tỷ lệ giữa khối lượng của phôi ép và thể tích của nó, bao gồm cả các khoảng trống không khí giữa các hạt. Mật độ khối ảnh hưởng đến các tính chất cơ học của bột, bao gồm khả năng hòa tan và độ ổn định của sản phẩm

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm đến hệ số giãn nở và mật độ khối

Nhiệt độ (°C)	Độ ẩm (%)	Hệ số nở	Mật độ khối (g/cm ³)
120	12,12 ± 0,50	1,93 ± 0,07	0,67 ± 0,01
	15,15 ± 0,54	2,37 ± 0,06	0,59 ± 0,02
	17,84 ± 0,59	2,07 ± 0,06	0,65 ± 0,001
140	12,17 ± 0,34	2,28 ± 0,02	0,58 ± 0,001
	14,47 ± 0,10	2,72 ± 0,10	0,54 ± 0,02

	$18,01 \pm 0,61$	$2,35 \pm 0,09$	$0,59 \pm 0,02$
160	$12,11 \pm 0,28$	$2,35 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,01$
	$14,57 \pm 0,45$	$2,93 \pm 0,10$	$0,44 \pm 0,01$
	$18,55 \pm 0,54$	$2,41 \pm 0,09$	$0,48 \pm 0,01$

Kết quả cho thấy, hệ số giãn nở bị ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt độ vùng ép. Nhiệt độ là yếu tố quyết định quá trình gelatin hóa tinh bột và biến tính protein. Khi tăng từ 120°C lên 160°C, hệ số giãn nở tăng đáng kể (từ 1,9 lên 2,9), chứng tỏ quá trình tạo cấu trúc xốp trong sản phẩm diễn ra hiệu quả hơn ở nhiệt độ cao. Giải thích hiện tượng này là do nhiệt độ cao làm tăng áp suất trong buồng ép, dẫn đến hiện tượng giãn nở mạnh khi nguyên liệu thoát ra khỏi khuôn (do chênh lệch áp suất và sự bốc hơi đột ngột của hơi nước). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Altan và cs (2009) [16]. Đồng thời, mật độ khối giảm từ 0,65 xuống 0,45 g/cm³ (thể tích tăng), cho thấy sự tạo hình xốp tốt hơn, phù hợp với các sản phẩm bột uống liền.

Nhiệt độ cao cũng ảnh hưởng đến thành phần của sản phẩm cuối cùng. Sự biến tính protein và hồ hóa tinh bột xảy ra ở nhiệt độ cao, dẫn đến việc các protein bị giãn xoắn và hình thành các liên kết ngang mới. Ở 180°C và tốc độ trục vít vòng/phút, tinh bột bị hồ hóa hoàn toàn và protein bị phân hủy, tạo ra các thành phần tan [17]. Theo các nghiên cứu trước đây nhiệt độ quá cao có thể dẫn đến sự phân hủy protein và carbohydrat và có thể gây ra hiện tượng vón cục và cháy khét. Khi thử nghiệm nâng cao nhiệt độ ép lên thêm thì nhận thấy quá trình ép có hiện tượng cháy khét nên có thể thấy nhiệt độ cao chỉ đến 160°C là phù hợp với quá trình ép đùn hạt tam giác mạch.

Khi tăng độ ẩm từ 12% lên 15%, hệ số nở tăng nhờ vào khả năng hỗ trợ quá trình gelatin hóa tinh bột. Tuy nhiên, ở độ ẩm 18%, hệ số nở bắt đầu giảm, đồng thời mật độ khối tăng nhẹ (phôi nặng hơn, độ xốp kém hơn). Điều này được lý giải do độ ẩm cao làm giảm áp suất bên trong phôi khi ra khỏi đầu đùn, làm giảm sự bay hơi đột ngột và giảm khả năng trương nở.

Hệ số giãn nở và mật độ khối có mối tương quan nghịch - sản phẩm nở nhiều thì nhẹ hơn và ngược lại.

Điều kiện ép đùn tối ưu cho hệ số nở cao và mật độ khối thấp là nhiệt độ 160°C và độ ẩm nguyên liệu 15%. Đây là điều kiện phù hợp nhất để tạo ra sản phẩm bột dinh dưỡng ăn liền có cấu trúc xốp, nhẹ, dễ hòa tan và cảm quan tốt.

3.2.2. Độ bền phá vỡ

Độ bền phá vỡ là đại lượng đo lực tối đa mà một vật liệu hoặc sản phẩm có thể chịu được trước khi bị vỡ, nứt, gãy hoặc biến dạng không phục hồi khi có tác động cơ học. Độ bền phá vỡ là chỉ tiêu kỹ thuật quan trọng dùng để đánh giá độ cứng - giòn - độ chắc cơ học của phôi ép đùn và nhiều loại thực phẩm khác. Chỉ số này giúp điều chỉnh công nghệ ép đùn, phối liệu và tốc độ nghiền cho phù hợp với yêu cầu sản phẩm cuối cùng.

Tốc độ trục ép có ảnh hưởng trực tiếp đến thời gian tiếp xúc của nguyên liệu trong khoang ép và mức độ phân tán lực cơ học trong quá trình ép đùn. Cụ thể:

- Tốc độ trục ép thấp: Tốc độ thấp dẫn đến thời gian lưu trú của nguyên liệu trong khoang ép dài hơn, lực tác động cơ học lên nguyên liệu nhiều hơn. Điều này có thể làm tăng mức độ biến tính của protein và phá hủy cấu trúc tinh bột, dẫn đến phôi ép có độ bền phá vỡ cao hơn do cấu trúc bị phá vỡ hoàn toàn.

- Tốc độ trục ép trung bình: Ở mức độ này, nguyên liệu được ép đùn với lực cơ học vừa phải, đủ để phá vỡ cấu trúc tinh bột và biến tính protein một cách đồng đều, tạo ra phôi ép có độ bền phá vỡ tối ưu. Đây là khoảng tốc độ thường được coi là lý tưởng trong các nghiên cứu về ép đùn.

- Tốc độ trục ép cao: Ở tốc độ cao, thời gian tiếp xúc của nguyên liệu với lực cơ học giảm đi, dẫn đến việc nguyên liệu chưa kịp bị biến tính hoặc phân hủy hoàn toàn, khiến sản phẩm có độ bền cơ học cao hơn nên độ bền phá vỡ cao hơn [18].

Bảng 4. Ảnh hưởng của tốc độ trục ép đến độ bền phá vỡ

Tốc độ trục (vòng/phút)	Độ bền phá vỡ (MPa)
100	$1,80 \pm 0,001$
150	$1,50 \pm 0,06$
200	$1,20 \pm 0,001$
250	$1,40 \pm 0,04$

Khi tăng tốc độ trục vít từ 100 lên 200 vòng/phút, độ bền phá vỡ giảm dần, từ 1,8 MPa → 1,2 MPa. Tuy nhiên, ở 250 vòng/phút, độ bền tăng nhẹ trở lại lên 1,4 MPa. Điều này có thể giải thích như sau:

+ Ở tốc độ thấp (100 - 150 vòng/phút): Nguyên liệu tiếp xúc lâu trong buồng ép. Áp lực cơ học và nhiệt tích tụ lớn dẫn đến nguyên liệu bị biến tính quá nhiều, cấu trúc bị rắn chắc lại. Do đó độ bền phá vỡ cao.

+ Tốc độ trung bình (200 vòng/phút): Đủ thời gian để tinh bột gelatin hóa và protein biến tính, tạo cấu trúc xốp, đồng đều và ổn định. Kết quả là độ bền phá vỡ thấp nhất, phôi giòn, dễ nghiền, phù hợp để sản xuất bột mịn.

+ Tốc độ cao (250 vòng/phút): Thời gian lưu ngắn hơn, nguyên liệu chưa kịp chín hoàn toàn. Dẫn đến sản phẩm có mạng cấu trúc chắc hơn, khó vỡ hơn, vì vậy, độ bền phá vỡ tăng nhẹ trở lại.

Tóm lại, độ bền phá vỡ của phôi ép đùn giảm dần khi tăng tốc độ trục vít đến 200 vòng/phút, sau đó tăng trở lại ở 250 vòng/phút. Tốc độ 200 vòng/phút là mức tối ưu để tạo sản phẩm có độ giòn - mềm phù hợp, dễ nghiền và thuận lợi cho sản xuất bột dinh dưỡng.

3.3. Nghiên cứu phương pháp nghiền phôi ép đùn cho độ mịn thích hợp nhất

Phương pháp nghiền phôi ép đùn là một bước khá quan trọng trong quy trình sản xuất bột dinh dưỡng uống liền nhằm tạo được sản phẩm có độ mịn thích hợp cho cảm quan. Phôi ép đùn được tạo ra từ quá trình đùn nguyên liệu dưới áp lực và nhiệt độ cao, làm thay đổi cấu trúc vật lý và hoá học của hạt tam giác mạch, giúp tăng cường khả năng hoà tan và chất lượng cảm quan của bột dinh dưỡng. Trong nội dung này, các phương pháp nghiền khác nhau và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng bột dinh dưỡng được khảo sát [19, 20, 21].

Bảng 5. Tỷ lệ phân bố kích thước hạt ở các phương pháp nghiền khác nhau

Phương pháp nghiền	Tỷ lệ phân bố kích thước các hạt (%)									
	0 - 10 μm	10 - 20 μm	20 - 30 μm	30 - 40 μm	40 - 50 μm	50 - 60 μm	60 - 70 μm	70 - 80 μm	80 - 90 μm	90 - 100 μm
Nghiền cối đá	0	0	1	2	4	9	18	51	12	3
Nghiền trục	0	0	2	5	15	50	20	5	2	1
Nghiền siêu mịn	2	15	45	18	10	6	3	1	0	0

Bảng 5 cho thấy, phương pháp nghiền cối đá tỉ lệ phân bố hạt rộng, kích thước lớn và nhiều hạt thô. Phương pháp nghiền trục hạt tập trung ở

khoảng mịn vừa, khá đồng đều. Phương pháp nghiền siêu mịn chủ yếu hạt siêu nhỏ, mịn hoàn toàn.

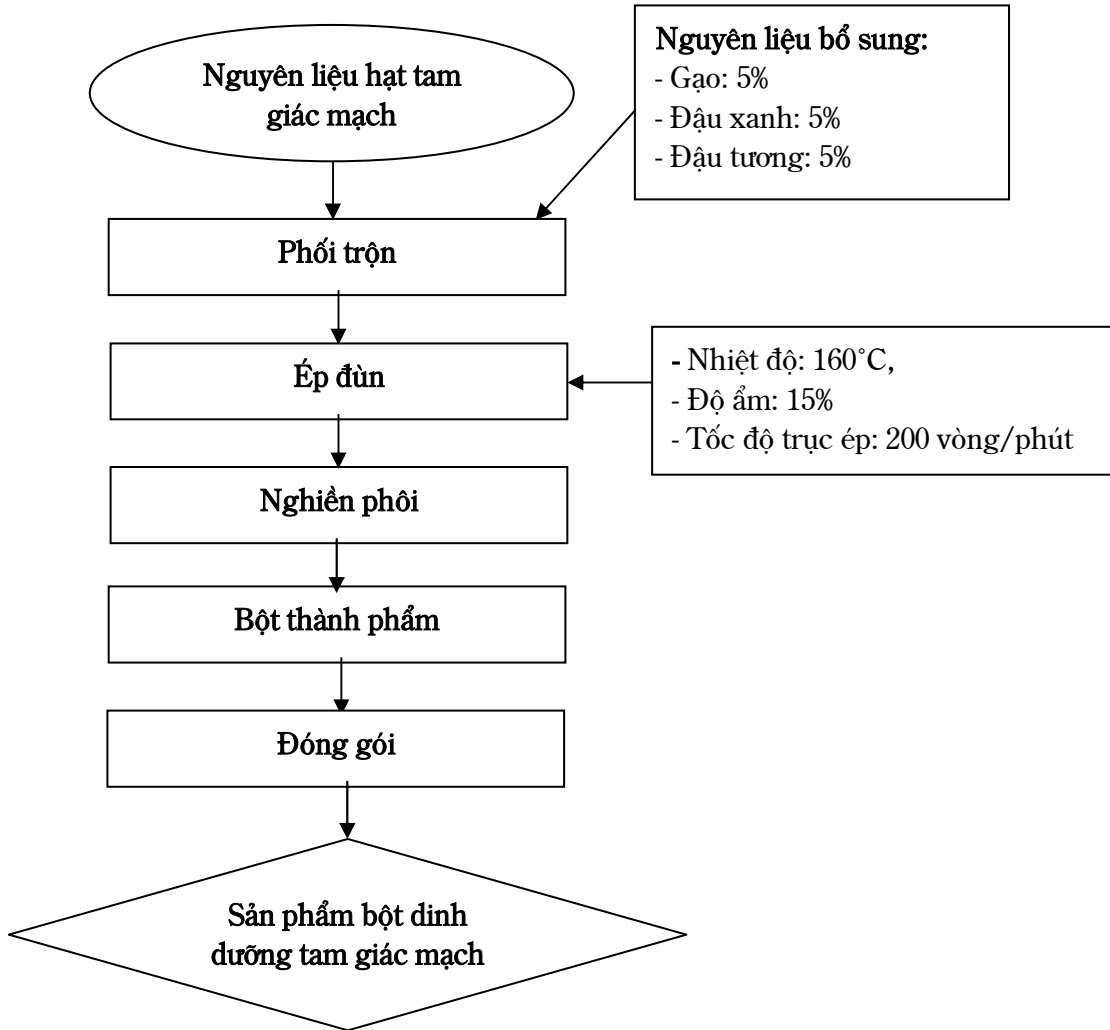
Bảng 6. Đánh giá độ ẩm, khả năng hòa tan và cảm quan của bột sau nghiền

Phương pháp nghiền	Độ ẩm (%)	Khả năng hòa tan (%)	Cảm quan
Nghiền cối đá	$6,5 \pm 0,26$	$85 \pm 3,25$	Cảm giác mịn vừa phải, có gợn hạt nhẹ trong khoang miệng
Nghiền trục	$5,6 \pm 0,19$	$80 \pm 1,90$	Cảm giác mịn đều
Nghiền siêu mịn	$5,2 \pm 0,16$	$90 \pm 3,68$	Cảm giác mịn tan hoàn toàn trong miệng

Các kết quả cho thấy, phương pháp nghiền siêu mịn cho chất lượng cảm quan tốt nhất nhưng có thể gây mất dinh dưỡng do nhiệt. Nghiền trực là lựa chọn cân bằng giữa hiệu suất nghiền, cảm quan và bảo toàn giá trị dinh dưỡng. Nghiền cối đá không đáp ứng yêu cầu do phân bố hạt không đồng đều.

3.4. Quy trình công nghệ sản xuất bột dinh dưỡng từ hạt tam giác mạch

Trên cơ sở lựa chọn được công thức phối chế nguyên liệu, điều kiện ép đùn, thiết bị nghiền phôi ép, đã đưa ra được quy trình công nghệ chế biến bột dinh dưỡng ăn liền tam giác mạch.



Hình 1. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất bột dinh dưỡng ăn liền tam giác mạch

Thuyết minh quy trình công nghệ

(1) Chuẩn bị nguyên liệu

Hạt tam giác mạch: 85%, gạo tẻ: 5%, đậu xanh: 5% và đậu tương: 5%.

(2) Phối trộn

Nguyên liệu được trộn đều trước khi đưa vào quá trình ép đùn.

(3) Ép đùn

Điều kiện ép đùn:

+ Nhiệt độ: 160°C.

+ Độ ẩm: 15%.

+ Tốc độ trục ép: 200 vòng/phút.

Mục tiêu: Tạo phôi có độ nở cao, giữ nguyên các chất dinh dưỡng trong nguyên liệu.

(4) Nghiền phôi

Sau khi ép đùn, phôi được nghiền bằng máy nghiền trục, giúp tạo ra hạt bột mịn có chất lượng cao.

(5) Đóng gói và bảo quản

Sản phẩm bột dinh dưỡng được đóng gói chân không trong bao bì nylon, bảo quản ở nơi khô ráo, thoáng mát, tránh tiếp xúc ánh sáng mặt trời, thời gian 6 tháng.

3.5. Đánh giá chất lượng bột dinh dưỡng tam giác mạch

Bột tam giác mạch được đóng túi nylon có hút chân không, bảo quản ở nơi khô ráo, thoáng mát, tránh tiếp xúc ánh sáng mặt trời. Kết quả phân tích sản phẩm bột dinh dưỡng tam giác mạch sau 6 tháng bảo quản được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân tích sản phẩm bột dinh dưỡng tam giác mạch

STT	Chỉ tiêu thử nghiệm	Đơn vị	Kết quả
1	Độ ẩm	%	5,06 ± 0,19
2	Năng lượng (Tính từ protein, béo và carbohydrate)	kcal/100 g	388 ± 16,23
3	Đạm	g/100 g	17,3 ± 0,65
4	Carbohydrat	g/100 g	70,0 ± 1,51
5	Chất béo	g/100 g	4,3 ± 0,14
6	Xơ tổng số	%	6,00 ± 0,001
7	Định tính dị ứng gluten	mg/kg	Không phát hiện (LOD = 3)
8	Aflatoxin tổng số (B1. B2. G1. G2)	µg/kg	Không phát hiện (LOD = 0,1)
9	Asen (As)	mg/kg	Không phát hiện (LOD = 0,003)
10	Cadimi (Cd)	mg/kg	Không phát hiện (LOD = 0,003)
11	Thủy ngân (Hg)	mg/kg	Không phát hiện (LOD = 0,003)
12	Chì (Pb)	mg/kg	Không phát hiện (LOD = 0,003)
13	<i>Salmonella</i> spp.	CFU/g	Không phát hiện
14	<i>Escherichia coli</i>	CFU/g	< 10
15	<i>Coliforms</i>	CFU/g	< 10
16	<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/g	< 10
17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/g	< 10

Bột dinh dưỡng tam giác mạch có trạng thái tơi xốp, màu sắc trắng ngà, có mùi thơm và hương vị đặc trưng của tam giác mạch. Sản phẩm không chứa kim loại nặng, aflatoxin và các vi sinh vật gây bệnh, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã xây dựng được quy trình sản xuất bột dinh dưỡng ăn liền từ hạt tam giác mạch bằng phương pháp ép đùn. Công thức phối trộn gồm hạt tam giác mạch 85%, gạo tẻ 5%, đậu

xanh 5% và đậu tương 5%. Quá trình ép đùn hạt tam giác mạch chịu ảnh hưởng mạnh mẽ bởi các yếu tố như: Nhiệt độ, độ ẩm, tốc độ trục ép. Nhiệt độ ép đùn 160°C, độ ẩm 15%, tốc độ trục ép 200 vòng/phút là những điều kiện tối ưu cho chất lượng phôi ép tốt nhất với hệ số nở cao, mật độ khối và độ bền phá vỡ thấp. Nghiên cứu được lựa chọn cho nghiền phôi tam giác mạch để tạo ra bột dinh dưỡng ăn liền. Sản phẩm có thời gian bảo

quản 6 tháng mà không bị giảm chất lượng, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed, A., Khalid, N., Ahmad, A., Abbasi, N. A., Latif, M. S. Z. & Randhawa, M. A. (2013). Phytochemicals and biofunctional properties of buckwheat: a review. *The Journal of Agricultural Science*, 152, 349 - 369.
2. Bonafaccia, G., Marocchini, M. & Kreft, I. (2003). Composition and technological properties of the flour and bran from common and Tartary buckwheat. *Food Chemistry*, 80, 9 - 15.
3. Fabjan, N., Rode, J., Kosir, I. J., Wang, Z. H., Zhang, Z. & Kreft, I. (2003). Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6452 - 6455.
4. Zhu, F. (2016). Buckwheat starch: structures, properties, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 121 - 135.
5. Li H., Xiong Z. and Li X. (2019). Optimization of the extrusion process for the development of extruded snacks using peanut, buckwheat, and rice blend. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(4), 42 - 46. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14264>.
6. Moraru & Kokini (2003). Nucleation and Expansion During Extrusion and Microwave Heating of Cereal Foods. *Journal of Food Science*, 4, 147 - 165.
7. Anderson, R. A., Conway, H. F., Pfeifer, V. F., and Griffin, E. I., Jr. (1969b). Roll and extrusion cooking of grain sorghum grits. *Cereal Sci. Today* 14, 372 - 375.
8. Tiêu chuẩn Quốc gia Việt Nam TCVN 14237-1:2024 (ISO 712-1:2024). Xác định hàm lượng ẩm.
9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8125:2015 (ISO 20483:2013). Xác định hàm lượng protein thô.
10. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6555:2011 (ISO 11085:2008). Xác định hàm lượng chất béo tổng số.
11. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN TCVN 9935:2013. Xác định hàm lượng carbohydrate.
12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9050:2012. Xác định hàm lượng chất xơ tổng số.
13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7871-1:2008. Xác định hàm lượng gluten.
14. Tiêu chuẩn Quốc gia Việt Nam TCVN 13646:2023. Xác định hàm lượng các kim loại nặng Pb, Cd, As, Hg.
15. Cheng W., Gao L., Wu D., Gao C., Meng L., Feng X. and Tang X. (2020). Effect of improved extrusion cooking technology on structure, physiochemical and nutritional characteristics of physically modified buckwheat flour: Its potential use as food ingredients. *Food Science and Technology*, 133: 1 - 8.
16. A. Altan, K. L. McCarthy, M. Maskan. (2009). Effect of Extrusion Cooking on Functional Properties and *in vitro* Starch Digestibility of Barley-Based Extrudates from Fruit and Vegetable By-Products. *Food Science*, 74, 77 - 86.
17. Johnson, R. & Lee, M. (2019). Effects of moisture content on extrusion expansion. *Food Science Journal*, 45(7), 56 - 65.
18. Smith, J. *et al.* (2020). Extrusion of buckwheat for food applications. *Journal of Food Engineering*, 123, 1 - 10.
19. Guo, X.D., Wu, C. S., Ma, Y. J. *et al.* (2012). Comparison of milling fractions of Tartary buckwheat for their phenolics and antioxidant properties. *Food Research International*, 49, 53 - 59.
20. Sun, C., Liu, R., Ni, K. *et al.* (2016). Reduction of particle size based on superfine grinding: effects on structure, rheological and gelling properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 186, 69 - 76.
21. Prabhasankar, P. & Rao, P. H. (2001). Effect of different milling methods on chemical composition of whole wheat flour. *European Food Research and Technology*, 213, 465 - 469.

**STUDY ON THE PRODUCTION OF INSTANT NUTRITIONAL POWDER
FROM BUCKWHEAT HARVESTED IN HA GIANG PROVINCE**

Dang Hong Anh¹, Nguyen Thu Van¹, Giang The Viet¹,

Pham Ngoc Thai¹, Tran Bao Tram²

¹ Food Industries Research Institute

² National Center for Technological Progress

Abstract

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) is a highly nutritious, gluten-free pseudocereal, rich in protein, dietary fibre and antioxidant compounds. This study aims to develop a production process for instant nutritional powder derived from buckwheat using extrusion technology. The formulation consists of 85% buckwheat, 5% white rice, 5% mung beans and 5% soybeans. The extrusion was carried out at a temperature of 160°C, with an initial moisture content of 15% and a screw speed of 200 rpm - identified as appropriate conditions to produce extrudates with a high expansion ratio, along with low bulk density and breaking strength. The extrudates obtained had an ivory-white colour and a distinctive buckwheat aroma, and were subsequently milled using a roller mill to produce a homogeneous powder. The final product met the requirements in terms of sensory characteristics, nutritional composition (including protein, lipid and fibre content), microbiological safety and food hygiene. After six months of storage in vacuum-sealed polyethylene packaging, the product retained its quality and stability. These findings underscore the potential of extrusion technology for the development of value-added functional foods from indigenous raw materials such as buckwheat cultivated in Ha Giang province.

Keywords: *Buckwheat, extrusion, instant nutritional flour.*

Ngày nhận bài: 20/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 16/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 24/7/2025

Ngày duyệt đăng: 5/8/2025

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP LÀM GIÀU PEPTIDE CHỨC NĂNG TỪ DỊCH THỦY PHÂN VI TẢO

Đỗ Thị Thủy Lê^{1,*}, Trần Hoàng Quyên¹, Bùi Thị Hồng Phương¹,

Bùi Thị Thúy Hà¹, Đỗ Đình Hải¹, Nguyễn Minh Châu¹,

Lê Văn Bắc¹, Phạm Linh Khoa¹

¹Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công thương

*Email: ledtt@firi.vn

TÓM TẮT

Peptide chức năng thu được từ thủy phân protein vi tảo có nhiều hoạt tính sinh học như: Điều hòa huyết áp, chống viêm, chống oxy hóa và hỗ trợ điều trị ung thư. Các peptide này thường có chuỗi ngắn từ 2 - 20 axit amin, chứa các axit amin thơm và kỵ nước, đóng vai trò chính trong hoạt tính sinh học. Để làm giàu peptide chức năng, nghiên cứu khảo sát ba phương pháp: Siêu lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off 10 kDa, sắc ký trao đổi ion DEAE và cô quay chân không. Kết quả cho thấy, phương pháp siêu lọc dòng ngang đạt hiệu suất thu hồi peptide là 22,29%, với hoạt tính ức chế ACE đạt 52,12% và hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH là 61,01%. Sắc ký trao đổi ion DEAE đạt hiệu suất thu hồi thấp nhất là 17,36%, nhưng peptide thu được có hoạt tính ACE là 45,76% và hoạt tính DPPH đạt 54,51%. Trong khi đó, phương pháp cô quay chân không có hiệu suất thu hồi cao nhất là 80,10%, với hoạt tính ACE là 70,07% và DPPH là 81,26%, tuy nhiên peptide có độ tinh sạch thấp hơn so với các phương pháp khác. Phương pháp cô quay chân không có ưu thế trong việc thu hồi peptide với hiệu suất cao và bảo toàn tốt hoạt tính sinh học, thích hợp cho ứng dụng trong thực phẩm chức năng. Các phương pháp siêu lọc và sắc ký trao đổi ion mặc dù có hiệu suất thu hồi thấp hơn nhưng tạo ra peptide có độ tinh sạch cao, phù hợp với ứng dụng yêu cầu peptide chức năng tinh khiết như trong dược phẩm.

Từ khóa: ACE, DPPH, vi tảo, peptide.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Protein vi tảo được tổng hợp từ 20 axit amin, là nguồn axit amin thiết yếu độc đáo cho dinh dưỡng của con người [1]. Những peptide hoạt tính sinh học tồn tại như một phần của protein vi tảo và không hoạt động cho đến khi chúng được giải phóng thông qua enzyme thủy phân protease. Tùy thuộc vào loại vi tảo, loại enzyme và điều kiện thủy phân khác nhau sẽ tạo ra hỗn hợp peptide có hoạt tính sinh học khác nhau. Hỗn hợp peptid giàu các axit amin thơm (Tyr, Trp, Met, Lys, Cys, His), axit amin kỵ nước (Leu, Val) và nhóm chức năng đặc biệt (nhóm sulfhydryl của Cys) làm tăng khả năng chống oxy hóa [2]. Hỗn hợp peptide có khối lượng phân tử thấp < 10 kDa thì đặc tính hạ huyết áp do ức chế men chuyển angiotensin I (ACE) và hoạt

tính chống oxy hóa cao hơn [1, 2]. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp và điều kiện công nghệ làm sạch chế phẩm giàu peptide chức năng từ vi tảo là cần thiết và ý nghĩa để có thể tạo ra chế phẩm giàu peptide chức năng, từ cơ sở đó có thể tạo ra các sản phẩm chức năng hỗ trợ chống oxy hóa và hạ huyết áp.

Một số phương pháp làm giàu peptide chức năng từ vi tảo:

Màng siêu lọc: Màng có kích thước lỗ 0,01 - 0,1 μm , lọc được các phân tử có khối lượng từ 1 - 500 kDa, màng làm bằng ceramic, polyethersulfon. Trong kết quả nghiên cứu của Megías và cs (2004) [3] đã sử dụng màng 5 kDa tinh chế peptide, Alina-Violeta Ursu và cs (2014) [4] sử dụng màng 300 kDa, $\text{pH}_{\text{dịch lọc}} = 12$, phần lớn

các protein vẫn ở dịch retentate, do chủ yếu protein vi tảo có kích thước lớn hơn 679 kDa. Ở pH = 12, xuất hiện peptide có khối lượng phân tử từ 1,4 - 9,2 kDa.

Sắc ký lọc gel: Khi hỗn hợp protein được nạp vào cột, các phân tử protein nhỏ sẽ khuếch tán vào các lỗ, protein lớn sẽ không đi qua lỗ và tiếp tục đi dọc theo cột và sẽ sớm ra khỏi cột hơn những hạt nhỏ. Kết quả nghiên cứu của I. Chuan Sheih và cs (2009) [5] đã sử dụng cột High HR Sephacryl S-100 thu các phân đoạn chứa peptide kích thước khác nhau.

Sắc ký trao đổi ion: Cho phép phân tách các ion hay các phân tử phân cực dựa trên tính chất của chúng. Độ pH quyết định trạng thái mang điện của các phân tử protein khác nhau có mặt trong dung dịch protein thô nạp vào cột. Hiệu suất thu hồi protein phụ thuộc nồng độ muối của dung dịch đệm dùng để rửa giải. Nghiên cứu của I. Chuan Sheih và cs (2009) [5] đã sử dụng cột Q-sepharose, đệm Tris-HCl 20 mM (pH = 7,8), rửa giải bằng NaCl (0,01 - 1,0 M) thu dịch chứa Peptide có hoạt tính sinh học hạ huyết áp.

Sắc ký pha đảo: Pha tĩnh là các silica đã được ankyl hoá, không phân cực, loại thông dụng nhất là $-C_{18}H_{37}$, còn pha động phân cực: Nước, methanol, axetonitrile... Kết quả nghiên cứu của Garcia-Vaquero và cs (2019) [6] và Lafarga và cs (2020) [7] đã thu hồi các peptide sinh học từ tảo *Ulva* spp. sử dụng MWCO, tinh sạch bằng RP-HPLC cho thấy, sự có mặt của axit amin thơm. Kết quả nghiên cứu của I. Chuan Sheih và cs (2009) [5] đã tiến hành tinh chế thêm các peptide sinh học từ vi tảo trên cột inertsil ODS3 C18 (10 ± 250 mm) và Sephasil Peptide C8 thu được peptide có hoạt tính ACE cao.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Chế phẩm dịch thủy phân vi tảo (*Spirulina platensis* và *Chlorella* sp.) có hàm lượng peptide 25,05 mg/ml, hoạt tính ACEI: 58,7%, hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH: 69,1% [8].

2.2. Phương pháp phân tích

2.2.1. Phương pháp xác định hàm lượng peptide protein

Xác định hàm lượng peptide tổng theo phương pháp cải tiến của Church và cs (1983) [9].

Xác định hàm lượng protein: Theo phương pháp Bradford (1976) [10].

2.2.2. Phương pháp xác định hoạt tính ức chế ACE:

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế ACE (ACEI) theo Sun và cs (2019) [11] được thực hiện dựa theo phương pháp của Cushman và cs (1983) [12]. Hoạt tính ức chế ACE (Angiotensin-Converting Enzyme) của mẫu thí nghiệm được đánh giá thông qua khả năng ức chế sự thủy phân co chất Hippuryl-Histidyl-Leucine (HHL) thành axit hippuric. Sự giảm độ hấp thụ quang (OD) của axit hippuric ở 228 nm tỷ lệ với hoạt tính ức chế. Mẫu ức chế càng mạnh, lượng axit hippuric tạo thành càng ít. Giá trị IC_{50} là nồng độ peptide (biểu thị bằng μ g peptid/ml) cần thiết để ức chế 50% hoạt tính ACE trong điều kiện thực hiện thí nghiệm, độ hấp thụ của các mẫu được đo ở bước sóng 228 nm.

2.2.3. Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa - khả năng bắt gốc tự do DPPH [13]

Hoạt tính chống oxy hóa của dịch thủy phân vi tảo được đánh giá thông qua phương pháp bắt gốc tự do DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) theo nguyên lý khử gốc DPPH% (màu tím) thành dạng DPPH-H (màu vàng), dựa trên sự suy giảm độ hấp thụ quang ở bước sóng 517 nm. Mẫu dịch thủy phân được ly tâm (10.000 g, 15 phút), lọc qua màng 0,45 μ m và pha loãng trong methanol đến nồng độ 5 mg/mL. Dung dịch DPPH 0,1 mM trong methanol được chuẩn bị và bảo quản trong tối. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL mẫu và 1 mL DPPH được vortex kỹ, ủ 30 phút ở 25°C trong điều kiện không ánh sáng. Độ hấp thụ (OD) đo bằng máy quang phổ UV-Vis (hiệu chỉnh nền bằng methanol không DPPH). Hoạt tính bắt gốc được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{OD_{\text{đối chứng âm}} - OD_{\text{mẫu}}}{OD_{\text{đối chứng âm}}} \times 100$$

Mẫu đối chứng dương sử dụng Trolox (1 mg/mL), thí nghiệm được lặp lại ba lần độc lập

2.3. Phương pháp làm sạch dịch chứa peptit chức năng thủy phân từ vi tảo

Phương pháp siêu lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off kích thước 10 kDa (WaterSep.net): Cột lọc có kích thước 3,3 x 30,5 cm, diện tích tiếp xúc bề mặt 0,13 m², áp suất tối đa 40 Psi (2,8 kg/cm²), nhiệt độ tối đa 60°C, màng cut-off 10 kDa. Dịch thủy phân sau ly tâm, làm sạch bằng màng cut-off 10 kDa với áp suất vào 0,6 - 0,7 kg/cm², tốc độ bơm 40 vòng/phút (70 ml/phút), ở điều kiện nhiệt độ phòng. Phân tích phần dịch đi qua màng (Permeate) và dịch hồi (Retentate) để xác định hoạt tính ức chế ACE, hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH và chạy điện di SDS-PAGE Bio-Rad, Life Technologies, GE Healthcare dải phân tách: 3-200 kDa (tối ưu < 100 kDa)

Phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE [13]: Tinh sạch trên máy AKTA Purifier 100, HR 16/10 diethylaminoethyl fast flow (DEAE FF) anion-exchange column (16/20 mm, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA) được cân bằng bởi đệm sodium acetate (pH = 4) 20 mM. Thể tích bơm mẫu 15 ml. Dung dịch rửa giải NaCl 1M, tốc độ rửa giải 0,5 ml/phút. Các protein sẽ được phát hiện bởi đầu dò của hệ thống máy tinh sạch ở bước sóng UV 280 nm.

Phương pháp cô đặc bằng cô quay chân không: Dịch thủy phân vi tảo (500 ml) cô loại bớt nước (giảm khoảng 40% thể tích), trong điều kiện áp suất chân không 150 ± 2 mBar, nhiệt độ cô 60°C trên hệ thống cô chiết chân không EYELA NVC-2200 Tokyo Rikakikai (EYELA) (Nhật Bản), tốc độ bơm: 50 lít/phút; độ chân không tối đa: 0,1 Pa; bể lạnh: -85°C; dung tích bình thu: 1 - 5 lít.

Phương pháp tính hiệu suất thu hàm lượng peptide tổng: Dựa trên tỷ lệ giữa hàm lượng peptide tổng thu được sau quá trình làm giàu và hàm lượng peptide tổng ban đầu có trong dịch mẫu (%).

2.4. Phương pháp tiến hành thí nghiệm

- *Phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE:* Hiệu quả phân tách peptide được đánh giá thông qua phân tích các phân đoạn thu được tại từng đỉnh sắc ký: Phân tích hoạt lực kìm hãm ACE, hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH và thành phần peptide bằng điện di polyacrylamide (SDS-PAGE). Khảo sát được thực hiện với ba nồng độ dung dịch NaCl: 0,5 M, 1,0 M và 1,5 M, nhằm xác định điều kiện rửa giải thích hợp giúp thu được phân đoạn peptide có hoạt tính sinh học cao nhất.

- *Phương pháp siêu lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off kích thước 10 kDa:* Để nâng cao hiệu quả quá trình siêu lọc, các thông số vận hành đã được khảo sát và tối ưu, bao gồm:

Áp suất vận hành: Thực hiện khảo sát trong ba khoảng áp suất khác nhau: 0,2 - 0,3 kg/cm²; 0,4 - 0,5 kg/cm²; 0,6 - 0,7 kg/cm² nhằm lựa chọn mức áp suất phù hợp nhất cho hiệu suất thu hồi peptide.

Tốc độ bơm mẫu: Khảo sát ba mức tốc độ bơm khác nhau gồm 30 vòng/phút, 40 vòng/phút và 50 vòng/phút để đánh giá ảnh hưởng đến lưu lượng dòng chảy và hiệu quả lọc.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm xử lý thống kê SPSS sử dụng thuật toán ANOVA.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu một số ảnh hưởng của điều kiện làm giàu peptide chức năng từ dịch thủy phân vi tảo bằng phương pháp siêu lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off kích thước 10 kDa

Mẫu dịch thủy phân vi tảo sau khi lọc qua màng thu được hai phân đoạn. Phân đoạn permeate (dịch qua màng) chứa các peptide có kích thước nhỏ hơn 10 kDa, với thể tích thu được trung bình 210 - 220 ml. Phân đoạn retentate (dịch hồi) thu được trung bình 100 - 110 mL. Kết quả phân tích các mẫu được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả làm giàu peptide chức năng từ dịch thủy phân vi tảo bằng phương pháp siêu lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off kích thước 10 kDa

STT	Hàm lượng peptit (mg/ml)	Hoạt tính ACEI (%)	Hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH, %	Hiệu suất thu hồi (%)
Dịch trước lọc	25,05 ± 0,01 ^a	58,7 ± 0,02 ⁱ	69,1 ± 0,02 ^m	
Dịch qua màng (Permeate)	7,21 ± 0,02 ^e	45,79 ± 0,03 ^b	53,90 ± 0,02 ⁿ	19,2 ± 0,6 ^h
Dịch hồi (Retentate)	39,69 ± 0,05 ^f	8,80 ± 0,02 ^c	10,36 ± 0,01 ^d	52,92 ± 0,5 ^g

Ghi chú: Các số mũ a, b, c,... dùng để phân biệt sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ giữa các cặp giá trị trung bình.

Kết quả trình bày trong bảng 1 cho thấy, với màng siêu lọc có kích thước cắt 10 kDa, phân đoạn dịch qua màng (permeate) chủ yếu chứa các peptide có kích thước nhỏ hơn 10 kDa và nước. Hiệu suất thu hồi peptide từ dịch qua màng (permeate) đạt 19,2%, trong khi dịch hồi (retentate) đạt 58,2%. Hoạt tính ức chế men chuyển angiotensin I (ACEI) tương ứng đạt 45,79% (permeate) và 8,80% (retentate). Hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH đạt 53,90% (permeate) và 10,36% (retentate). Điều này cho thấy, dịch qua màng giàu peptide có kích thước nhỏ, đồng thời thể hiện hoạt tính sinh học ACEI và chống oxy hóa cao, tuy nhiên hiệu suất thu hồi còn hạn chế.

Một số các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi peptide chức năng của màng siêu lọc:

- Áp suất cột lọc: Tỷ lệ thấm qua màng tỷ lệ thuận với áp lực bề mặt màng.

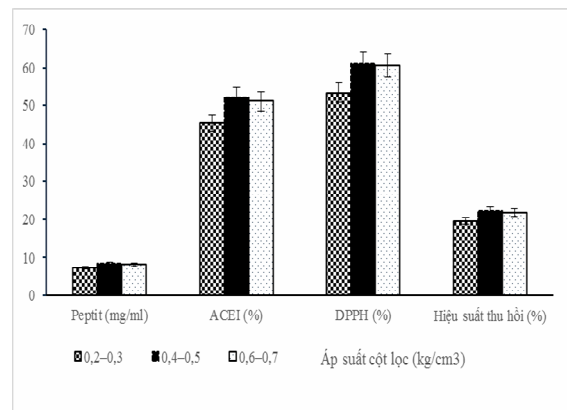
- Dòng chảy tiếp tuyến: Tốc độ dòng chảy của dung dịch dọc theo bề mặt màng có ảnh hưởng trực tiếp đến tốc độ thẩm thấu. Tăng vận tốc dòng chảy có thể cải thiện hiệu quả thẩm tách, đặc biệt quan trọng đối với dịch chứa nhũ tương hoặc huyền phù. Tuy nhiên, dòng chảy cao hơn cũng đồng nghĩa với mức tiêu thụ năng lượng và công suất bơm lớn hơn.

Tiến hành làm lọc dịch thủy phân với tốc độ bơm mẫu 30 vòng/phút ở các điều kiện áp suất khác nhau. Kết quả thu được ở hình 1.

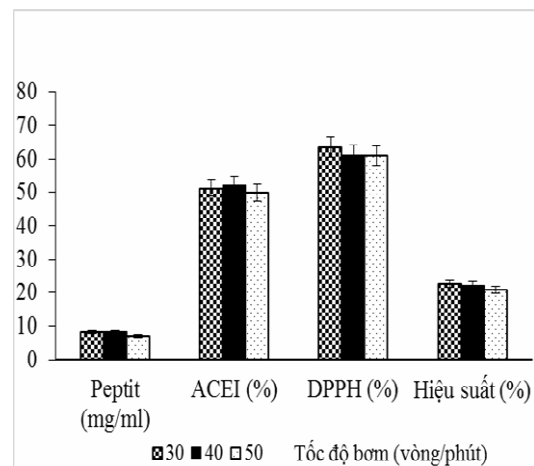
Áp suất cột lọc càng cao thì áp suất thẩm thấu của các phân tử có kích thước nhỏ hơn 10 kDa càng lớn. Trong dải áp suất được điều chỉnh từ 0,2 - 0,7 kg/cm² (đây là áp suất an toàn cho màng lọc), hiệu quả thu hồi các peptide chức năng, cũng như

hoạt tính ACEI và oxy hóa không có sự khác biệt nhiều, do vậy đã lựa chọn khoảng áp suất cột để lọc trong dải 0,4 - 0,5 kg/cm² là thích hợp nhất.

Dịch thủy phân vi tảo có độ nhớt không cao, tuy nhiên tốc độ bơm nhu động ảnh hưởng tới hiệu suất thu hồi peptide chức năng. Tiến hành lọc dịch ở áp suất 0,4 - 0,5 kg/cm², với các tốc độ bơm mẫu khác nhau. Kết quả thu được ở hình 2.



Hình 1. Ảnh hưởng của áp suất cột lọc tới hiệu suất thu hồi và hoạt tính peptid chức năng



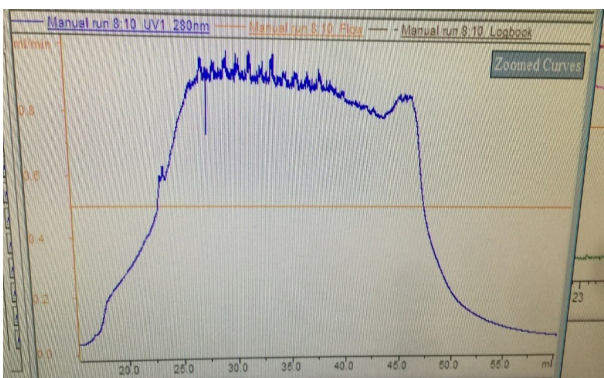
Hình 2. Ảnh hưởng của tốc độ bơm tới hiệu suất thu hồi và hoạt tính peptid chức năng

Hình 2 cho thấy: Tốc độ bơm lớn, thời gian lọc rút ngắn, tiết kiệm được năng lượng. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi peptide và hoạt tính kim hãm ACE và hoạt tính chống oxy hóa gốc tự do DPPH ở cả 3 tốc độ bơm không khác nhau nhiều. Lựa chọn tốc độ bơm mẫu ở 40 vòng/phút là thích hợp nhất.

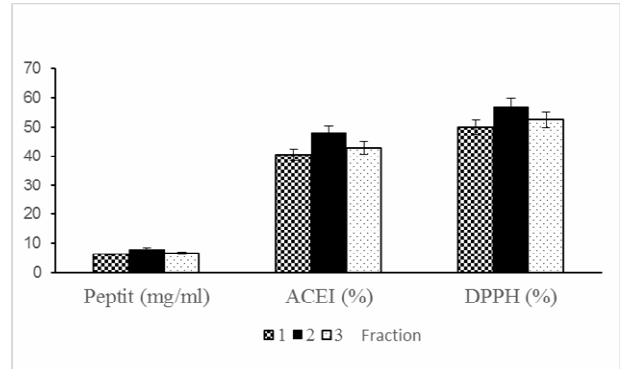
Điều kiện thích hợp làm giàu peptide chức năng từ dịch thủy phân vi tảo bằng thiết bị lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off kích thước 10 kDa như sau: Tốc độ bơm mẫu: 40 v/ph; áp suất cột lọc: 0,4 - 0,5 kg/cm², hiệu suất thu hồi peptit đạt 22,29%; hoạt tính kim hãm ACE đạt 52,12%; khả năng bắt gốc tự do DPPH đạt 61,01%.

3.2. Nghiên cứu lựa chọn điều kiện làm giàu peptit chức năng từ dịch thủy phân vi tảo bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE

Dịch thủy phân vi tảo được làm giàu bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE. Sắc ký trao đổi anion sử dụng pha tĩnh tích điện dương (DEAE-cellulose) để tách các axit amin, peptide và protein tích điện âm. Peptide dễ dàng bám lên bề mặt của bộ đệm DEAE, tuy vậy tốc độ bơm mẫu và thời gian lưu mẫu ảnh hưởng tới hiệu quả kết hợp của peptide với pha tĩnh, do vậy đã lựa chọn tốc độ bơm mẫu 2 ml/phút, thời gian lưu mẫu 30 phút, tốc độ rửa giải 0,5 ml/phút. Lượng dịch mẫu bơm vào cột 15 ml, dung dịch rửa giải NaCl 1M. Sắc ký đồ thu được ở hình 1, mẫu không tách được các đỉnh riêng biệt. Thu dịch rửa giải tại khoảng dịch chạy bắt đầu chuẩn bị xuất hiện peak và có peak, phân đoạn 1 (5 ml) là dịch rửa giải thu từ ml khoảng thứ 20 đến 25, phân đoạn 2 (15 ml) là dịch rửa giải thu từ ml khoảng thứ 26 - 40, phân đoạn 3 (10 ml) là dịch rửa giải thu từ ml khoảng thứ 41 - 50. Kết quả được trình bày trong hình 3, 4.



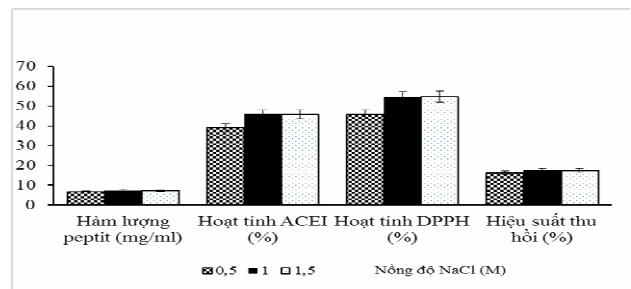
Hình 3. Sắc ký đồ của dịch thủy phân vi tảo khi phân tách bằng cột sắc ký trao đổi ion DEAE



Hình 4. Hàm lượng, hoạt tính peptide chức năng của 3 phân đoạn khi phân tách bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE

Kết quả ở hình 3, 4 cho thấy, 3 phân đoạn đều chứa các peptide chức năng có hoạt tính ACEI từ 40,31- 48,10%, hoạt tính chống oxy hóa - bắt gốc tự do DPPH trong khoảng 49,87 - 57,11%. Như vậy, tuy không có các peak của một peptide cụ thể, nhưng peptide thu được sau rửa giải là hỗn hợp peptide chức năng có hoạt tính ACEI và chống oxy hóa, thu dịch rửa giải của cả 3 phân đoạn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Nồng độ NaCl trong dung dịch rửa giải ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi peptide trong quá trình sắc ký trao đổi ion. Cơ chế của sắc ký trao đổi ion dựa trên sự gắn kết thuận nghịch giữa các phân tử mang điện tích với nhóm chức trên chất mang trao đổi ion. Trong hệ thống sử dụng DEAE-cellulose (mang điện tích âm), các peptide tích điện dương sẽ được giữ lại trên cột. Khi bổ sung dung dịch NaCl, ion Na⁺ sẽ cạnh tranh với peptide để gắn vào các nhóm chức âm của DEAE-cellulose, làm tăng lực ion và thúc đẩy quá trình rửa giải peptide khỏi cột [14]. Do đó, nồng độ NaCl có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tách và thu hồi peptide. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl được trình bày trong hình 5.



Hình 5. Ảnh hưởng nồng độ NaCl tới hiệu suất thu hồi và hoạt tính peptide chức năng khi phân tách bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE

Kết quả trình bày trong hình 5 cho thấy, khi nồng độ NaCl tăng từ 0,5 M lên 1,0 M, hiệu suất thu hồi peptide, hoạt tính ức chế ACE và hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng chống oxy hóa gốc tự do DPPH đều tăng đáng kể. Tuy nhiên, khi nồng độ muối tăng lên 1,5 M, các chỉ số trên gần như không thay đổi, cho thấy việc gia tăng nồng độ NaCl vượt quá 1,0 M không mang lại lợi ích rõ rệt. Do đó, nồng độ NaCl 1,0 M được xác định là phù hợp nhất cho quá trình rửa giải.

Điều kiện thích hợp cho quá trình làm giàu peptide chức năng bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE được xác định như sau: Tốc độ bơm mẫu 2 mL/phút, thời gian lưu mẫu 30 phút, tốc độ

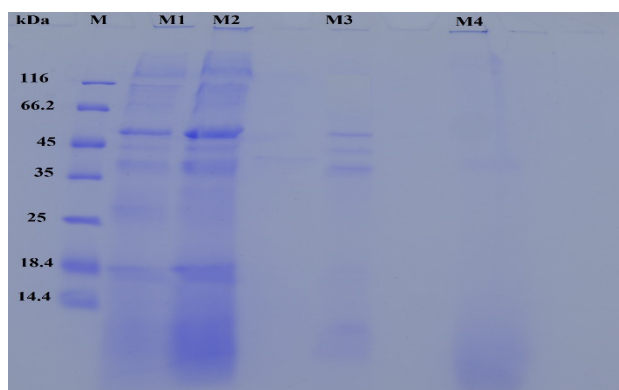
rửa giải 0,5 mL/phút và nồng độ dung dịch NaCl rửa giải là 1,0 M. Ở điều kiện này, hiệu suất thu hồi peptide đạt 17,36%, hoạt tính ức chế ACE đạt 45,76% và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH đạt 54,51%.

3.3. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp làm giàu peptit chức năng thủy phân từ vi tảo

Dịch thủy phân từ vi tảo được làm sạch bằng siêu lọc dòng ngang (cross-flow) qua màng cut-off kích thước 10 kDa; sắc ký trao đổi ion DEAE; cô quay chân không. Đánh giá hoạt tính kim hãm ACE và hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH, hiệu suất thu hồi của 3 phương pháp thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp làm giàu peptide chức năng thích hợp nhất từ dịch thủy phân vi tảo

Phương pháp thu nhận, làm sạch	Hàm lượng peptide (mg/ml)	Hoạt tính ACEI (%)	Hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
Dịch thủy phân vi tảo	25,05	58,7	69,1	
Dịch cô đặc bằng cô quay chân không	33,30	70,07	81,26	80,10
Dịch qua siêu lọc dòng ngang cross - flow với màng cut - off 10 kDa	8,35	52,12	61,01	22,29
Dịch làm sạch bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion DEAE	7,25	45,76	54,51	17,36



Hình 6. Hình ảnh điện di trên gel polyacrylamide (15%) của các mẫu làm giàu peptide chức năng từ dịch thủy phân vi tảo

Ghi chú: M: marker; M1: Dịch thủy phân vi tảo, M2: Dịch thủy phân vi tảo cô đặc bằng cô quay chân không, M3: Dịch chứa peptide chức năng làm giàu bằng sắc ký trao đổi ion DEAE, M4:

Dịch chứa peptide chức năng làm giàu bằng siêu lọc dòng ngang cross-flow với màng cut-off 10 kDa.

Kết quả phân tích điện di (Hình 6) cho thấy, các mẫu M1 và M2 chứa protein có kích thước nhỏ hơn 116 kDa, trong đó mẫu M2 chủ yếu bao gồm peptide có kích thước dưới 14 kDa. Mẫu M3 chứa chủ yếu peptide trong khoảng 35 – 50 kDa và một phần peptide nhỏ hơn 14 kDa, trong khi mẫu M4 chỉ chứa peptide có kích thước nhỏ hơn 14,4 kDa. Tuy nhiên, để đánh giá hiệu quả của các phương pháp làm giàu peptide chức năng, cần xem xét thêm hiệu suất thu hồi và hoạt tính sinh học của peptide.

Kết quả tổng hợp trong bảng 2 cho thấy, dịch sau cô quay chân không đạt hiệu suất thu hồi peptide tổng cao nhất (80,10%), đồng thời thể hiện

hoạt tính ức chế ACE (70,07%) và khả năng chống oxy hóa-bắt gốc tự do DPPH (81,26%) cao nhất. Tiếp theo là phương pháp siêu lọc dòng ngang (cross-flow) sử dụng màng cut-off 10 kDa, với hiệu suất thu hồi peptide đạt 22,29%, hoạt tính ACEI 52,12% và hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH 61,01%. Phương pháp có hiệu suất thu hồi thấp nhất là sắc ký trao đổi ion DEAE, với hiệu suất 17,36%, hoạt tính ACEI 45,76% và hoạt tính DPPH 54,51%.

Mặc dù, nhiều nghiên cứu trước đây đã ghi nhận rằng peptide có kích thước dưới 10 kDa thường thể hiện hoạt tính ức chế ACE mạnh [3, 7] song trong nghiên cứu này, dịch permeate thu được sau siêu lọc lại có hoạt tính chức năng thấp hơn mong đợi. Nguyên nhân có thể do một phần peptide chức năng có kích thước lớn hơn 10 kDa bị giữ lại trong dịch retentate hoặc hấp phụ lên bề mặt màng lọc (trên thiết bị lọc hiện có). Trong khi đó, hiệu suất thu hồi peptide ở phương pháp trao đổi ion DEAE thấp do phụ thuộc vào hiệu quả hấp phụ và rửa giải, tương tự kết quả nghiên cứu của I. Chuan Sheih (2009) [5] khi sử dụng NaCl 1 M để tách peptide có hoạt tính ACEI từ vi tảo.

Hiệu suất thu hồi peptide bằng phương pháp cô quay chân không cao hơn đáng kể so với hai phương pháp còn lại do dịch thu được chứa cả peptide chức năng và các peptide có kích thước lớn hơn 10 kDa. Tuy nhiên, hoạt tính sinh học (ức chế ACE và hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH) không tăng tương ứng với hiệu suất thu hồi, do các phương pháp siêu lọc dòng ngang (cross-flow) và sắc ký trao đổi ion DEAE tạo ra các phân đoạn peptide chức năng có độ tinh sạch cao hơn. Nếu mục tiêu ứng dụng yêu cầu nồng độ peptide chức năng cao và tinh khiết, đặc biệt trong lĩnh vực dược phẩm, thì phương pháp siêu lọc với màng cut-off 10 kDa và sắc ký trao đổi ion DEAE là lựa chọn phù hợp hơn. Trong khi đó, phương pháp cô quay chân không chủ yếu có ưu thế trong việc tăng hiệu suất thu hồi peptide và bảo toàn hoạt tính sinh học nhờ điều kiện vận hành ở áp suất thấp, giúp hạn chế sự mất mát và

biến tính peptide. Đây là phương pháp an toàn, phù hợp với mục tiêu ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng như nước uống rau củ hoặc viên nén, góp phần giữ lại hàm lượng protein, peptide chức năng và các hợp chất có lợi khác từ vi tảo (ví dụ: vitamin, khoáng chất...).

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ba phương pháp làm giàu peptide chức năng từ dịch thủy phân vi tảo (cô quay chân không, siêu lọc dòng ngang và sắc ký trao đổi ion DEAE) đều có những ưu điểm riêng. Phương pháp cô quay chân không cho hiệu suất thu hồi peptide cao nhất (80,10%) và đồng thời bảo toàn tốt hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, mức độ tinh sạch của peptide chức năng trong phương pháp này không cao do không loại bỏ được các phân tử có kích thước lớn hơn 10 kDa. Trong khi đó, phương pháp siêu lọc và sắc ký trao đổi ion mặc dù cho hiệu suất thu hồi thấp hơn (lần lượt là 22,29% và 17,36%), nhưng cho phép phân tách chọn lọc các peptide có kích thước nhỏ và độ tinh sạch cao hơn, với hoạt tính sinh học vẫn đạt mức đáng kể. Các phương pháp này do đó phù hợp hơn trong các ứng dụng yêu cầu peptide chức năng có độ tinh khiết cao, chẳng hạn như trong lĩnh vực dược phẩm. Tùy theo mục tiêu ứng dụng, có thể lựa chọn phương pháp phù hợp: Cô quay chân không ưu tiên cho thực phẩm chức năng nhờ khả năng bảo toàn thành phần sinh học và hiệu suất thu hồi cao; trong khi siêu lọc và trao đổi ion phù hợp với nhu cầu tinh sạch peptide chức năng cho các sản phẩm chuyên biệt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Raman Kumar, Athrinandan S. Hegde, Kartik Sharma, Priyanka Parmar, Vidyashankar Srivatsan (2022). Microalgae as a sustainable source of edible proteins and bioactive peptides – Current trends and future prospects. Food Research International 157 111338
2. Jack O'Connor, Marco Garcia-Vaquero, Steve Meaney and Brijesh Kumar Tiwari (2022).

Bioactive peptides from algae: Traditional and novel generation strategies, structure function relationships, and bioinformatics as predictive tools for bioactivity. *Mar. Drugs*, 20, 317. <https://doi.org/10.3390/md20050317>

3. Megías, C.; Yust, M.d.M.; Pedroche, J.; Lquari, H.; Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Millán, F.; Vioque, J (2004). Purification of an ACE inhibitory peptide after hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1928 - 1932.

4. Alina-Violeta Ursu, Alain Marcati, Thierry Sayd, Véronique Sante-Lhoutellier, Gholamreza Djelveh, Philippe Michaud (2014). Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 157, 134 -139.

5. I. Chuan Sheih, Tony J. Fang, Tung-Kung Wu (2009). Isolation and characterisation of a novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from the algae protein waste. *Food Chemistry*, 115(1), 279 - 284.

6. Garcia Vaquero M., Mora L., Hayes M (2019). *In vitro* and *In silico* approaches to generating and identifying angiotensin converting enzyme i inhibitory peptides from green macroalga *ulva lactuca*. *Mar. Drugs*, 17, 204.

7. Lafarga T., Acién Fernández F. G., Garcia Vaquero M. (2020). Bioactive peptides and carbohydrates from seaweed for food applications: Natural occurrence, isolation, purification, and identification. *Algal Res*, 48, 101909.

8. Trần Hoàng Quyên, Đỗ Thị Thủy Lê, Bùi Thị Hồng Phương, Bùi Thị Thúy Hà, Đỗ Đình Hải, Nguyễn Minh Châu, Lê Văn Bắc, Phạm Linh Khoa (2022). Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm giàu peptide chức năng từ một số loại microalgae Việt Nam ứng dụng trong sản xuất thực phẩm dành cho người ăn chay. Đề tài cấp Bộ Công thương mã số ĐTKHCN.036/22.

9. Frank C. Church, Harold E. Swaisgood, David H. Porter, George L. Catignani (1983). Spectrophotometric assay using α -phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 66(6), 1219 - 1227.

10. Marion M. Bradford (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1 - 2), 248 - 254.

11. S. Sun, X. Xu, X. Sun, X. Zhang, X. Chen, N. Xu (2019). Preparation and identification of ACE inhibitory peptides from the marine macroalga *Ulva intestinalis*. *Marine drugs*, 17(3), 179. <https://doi.org/10.3390/md17030179>

12. D. W. Cushman, R. Tung, H. S. Cheung, E. M. Gordon, F. L. Wang, N. G. Delaney (1983). Rat brain enkephalinase: Characteristion of the active site using mercaptopropanoyl amino acid inhibitors, and comparison with angiotensin-converting enzyme. *Life Sciences*, 33(1), 113 - 116.

13. Amal Maadane, Nawal Merghoub, Tarik Ainane, Hicham El Arroussi, Redouane Benhima, Saaïd Amzazi, Youssef Bakri, Imane Wahby (2015). Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: Pufaprofiles, carotenoids and phenolic content. *Journal of Biotechnology*, 215, 13 - 19.

14. Thanh Sang Vo, BoMi Ryu, Se Kwon Kim (2013). Purification of novel anti-inflammatory peptides from enzymatic hydrolysate of the edible microalgal *Spirulina maxima*. *Journal of functional foods*, 5, 1336 - 1346.

15. Tishchenko G. A., Bleha M., Skvor J., Bostík T. (1998). Effect of salt concentration gradient on separation of different types of specific immunoglobulins by ion-exchange chromatography on DEAE cellulose. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 706(1), 157 - 166. doi: 10.1016/s0378-4347(97)00453-2.

**STUDY ON SEVERAL METHODS TO ENRICH BIOACTIVE PEPTIDES
FROM MICROALGAL HYDROLYSATE BROTH**

**Do Thi Thuy Le¹, Tran Hoang Quyen¹,
Bui Thi Hong Phuong¹, Bui Thi Thuy Ha¹,
Do Dinh Hai¹, Nguyen Minh Chau¹,
Le Van Bac¹, Pham Linh Khoa¹**

¹Food Industries Research Institute, Ministry of Industry and Trade

Abstract

The functional peptides obtained from the hydrolysis of microalgae proteins exhibit various biological activities, such as blood pressure regulation, anti-inflammatory, antioxidant effects, and support in cancer treatment. These peptides typically consist of short chains of 2 - 20 amino acids, containing aromatic and hydrophobic amino acids, which play a key role in their biological activity. To enrich functional peptides, three methods were investigated: Cross-flow ultrafiltration using a 10 kDa cut-off membrane, DEAE ion-exchange chromatography, and vacuum rotary evaporation. The results showed that the cross-flow ultrafiltration method achieved a peptide recovery rate of 22.29%, with ACE inhibition activity of 52.12% and antioxidant activity (DPPH) of 61.01%. The DEAE ion-exchange chromatography method had the lowest recovery efficiency at 17.36%, but the resulting peptides had ACE activity of 45.76% and DPPH activity of 54.51%. Meanwhile, the vacuum rotary evaporation method had the highest recovery efficiency at 80.10%, with ACE activity of 70.07% and DPPH activity of 81.26%. However, the peptides obtained by this method had lower purity compared to the other methods. The vacuum rotary evaporation method has the advantage of high recovery efficiency and good preservation of biological activity, making it suitable for use in functional foods. Although the ultrafiltration and ion-exchange chromatography methods have lower recovery efficiencies, they produce peptides with higher purity, which is more appropriate for applications requiring pure functional peptides, such as in pharmaceuticals.

Keywords: *ACE, DPPH, microalgae, peptide.*

Ngày nhận bài: 20/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 16/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 21/7/2025

Ngày duyệt đăng: 5/8/2025

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN TINH BỘT GẠO THÀNH MALTODEXTRIN BẰNG α -AMYLASE HT-800

**Đỗ Trọng Hưng^{1,*}, Nguyễn Thuý Linh¹,
Nguyễn Hoàng Phi¹, Lương Thị Như Hoa¹**

¹ *Viện Công nghiệp thực phẩm (FIRI)*

** Email: hungvtp@gmail.com*

TÓM TẮT

Maltodextrin là một sản phẩm được thủy phân tinh bột bằng enzyme amylase ở mức độ thủy phân khác nhau được biểu thị bằng chỉ số đương lượng đường khử (DE). Tùy thuộc vào mục đích sử dụng và nhu cầu của thị trường để tiến hành sản xuất ra sản phẩm maltodextrin có giá trị DE khác nhau. Maltodextrin có khoảng DE khác nhau thì có đặc tính của sản phẩm khác nhau. Trong nghiên cứu này, maltodextrin DE 12-15 được thủy phân từ tinh bột gạo từ giống lúa IR504 của Việt Nam dưới tác dụng của enzyme α -amylase HT-800 (Trung Quốc) là một loại enzyme thương mại mới, có tính bền nhiệt và hoạt lực cao. Các điều kiện thủy phân thích hợp được xác định: Nồng độ enzyme 0,03%, nồng độ cơ chất 20%, nhiệt độ 90°C, thời gian 20 phút và pH 5,5. Maltodextrin thu được có giá trị DE 13,3 - 13,5.

Từ khoá: *Maltodextrin, dextrose equivalent (DE), tinh bột gạo, thủy phân tinh bột, α -amylase HT-800.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong xu thế phát triển các sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên, thân thiện với môi trường và đáp ứng yêu cầu an toàn thực phẩm, việc khai thác và biến tính tinh bột từ các nguồn nông sản đang trở thành một hướng nghiên cứu nhận được sự quan tâm. Tinh bột, đặc biệt là tinh bột từ gạo - một loại nông sản phổ biến tại Việt Nam - không chỉ có giá trị dinh dưỡng cao mà còn là nguyên liệu tiềm năng cho quá trình sản xuất các dẫn xuất tinh bột, trong đó maltodextrin là một trong những sản phẩm có giá trị ứng dụng cao.

Maltodextrin là sản phẩm thủy phân một phần của tinh bột, dễ hòa tan trong nước, không có vị ngọt rõ rệt và có khả năng cải thiện nhiều đặc tính của thực phẩm như: Độ nhớt, độ ổn định, khả năng giữ ẩm và ổn định cấu trúc [1]. Trong ngành công nghiệp thực phẩm, maltodextrin được sử dụng như một chất độn, chất mang, chất làm dày, chất tạo hình và chất ổn định cho các sản phẩm như: Nước giải khát, sữa bột, thực phẩm chức năng, gia vị, sản phẩm đông khô và vi nang hóa các hợp chất hoạt tính. Ngoài ra, maltodextrin còn được ứng dụng

trong dược phẩm (làm tá dược), mỹ phẩm và bao bì phân hủy sinh học cho thấy tiềm năng thương mại và gia tăng giá trị [2]. Maltodextrin là một loại tinh bột biến tính được sản xuất từ tinh bột bằng enzyme α -amylase, là polysaccharide cấu tạo từ các D-glucose liên kết với nhau chủ yếu bằng liên kết α - 1,4 glucoside và có chỉ số đương lượng đường khử (Dextrose Equivalent - DE) < 20. Từ giá trị DE cho biết mức độ trùng hợp (DP) đơn vị glucose trong phân tử tinh bột. Maltodextrin được phân loại dựa trên chỉ số DE, mỗi khoảng DE khác nhau cho đặc tính của sản phẩm khác nhau [3]. Tùy thuộc vào mục đích sử dụng và nhu cầu của thị trường mà người ta tiến hành sản xuất ra sản phẩm maltodextrin có giá trị DE tương ứng. Maltodextrin có DE thấp (12 - 15) dễ thu hồi bằng sấy phun, có vị trung tính, ít hút ẩm do có chuỗi phân tử dài, nhiệt độ kết tinh cao thích hợp để duy trì kết cấu và cải thiện cảm quan khi sử dụng trong thực phẩm như đồ uống, nước sốt,... Maltodextrin có DE thấp có hàm lượng đường thấp nên chúng được ứng dụng trong các thực phẩm chế biến ở nhiệt độ cao, tránh được phản ứng caramen hóa

hoặc phản ứng Maillard tạo màu nâu [2]. Nghiên cứu của Simonenko và cs (2020) đã thay thế một phần đường sữa công thức bằng maltodextrin cho thấy maltodextrin được sử dụng tốt trong ruột, có tác động tích cực đến hệ vi sinh vật đường ruột. Do đó, trong các công thức sữa phù hợp với trẻ sơ sinh được thay thế một phần carbohydrates bằng maltodextrin. Nghiên cứu này mở ra khả năng sử dụng maltodextrin được sản xuất trong các sản phẩm thực phẩm chuyên dụng về dinh dưỡng cho trẻ sơ sinh để dễ tiêu hóa thành phần carbohydrate của sản phẩm cuối cùng [4].

Sản xuất maltodextrin bao gồm quá trình dịch hóa và quá trình thu hồi sản phẩm dạng bột. Dịch hoá tinh bột bằng enzyme α -amylase để sản xuất maltodextrin có DE thích hợp phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nồng độ enzyme, nhiệt độ, thời gian dịch hóa, nồng độ bột,... [2, 5, 6, 7]. Tensiska và cs (2016) đã nghiên cứu sử dụng enzyme α -amylase với nồng độ 0,30 ml/kg thủy phân tinh bột ngô với điều kiện nhiệt độ 90°C trong 10 phút tạo ra maltodextrin. Kết quả thủy phân, maltodextrin có chỉ số DE 10,8. Sản phẩm thu hồi bằng phương pháp sấy phun có độ trắng 92,98%, hiệu suất thu hồi đạt 88,43%. [8].

Nghiên cứu xác định các điều kiện thủy phân tinh bột gạo thành maltodextrin bằng enzyme α -amylase được thực hiện trên đối tượng tinh bột gạo từ giống lúa IR504 được trồng phổ biến tại các vùng đồng bằng nước ta và khảo sát ảnh hưởng của các thông số kỹ thuật quan trọng đến quá trình thủy phân tinh bột bằng enzyme α -amylase HT - 800 là loại enzyme mới trên thị trường có nguồn gốc từ Trung Quốc với hoạt lực cao, ổn định ở nhiệt độ cao và giá thành hợp lý. Kết quả thí nghiệm được đánh giá bằng chỉ số DE của dịch thủy phân. Nghiên cứu này làm tiền đề xây dựng quy trình công nghệ sản xuất maltodextrin có giá trị DE thấp từ tinh bột gạo định hướng ứng dụng trong các loại thực phẩm có cấu trúc dạng sệt, có độ nhớt như các loại nước sốt, đồ uống,... mà giữ được cấu trúc ổn định trong quá trình bảo quản. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần vào việc phát triển công nghệ chế biến sâu tinh bột, nâng cao giá trị sử dụng của gạo và góp phần thúc đẩy ngành công nghiệp thực phẩm.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

- Nguyên vật liệu: Tinh bột gạo từ giống lúa IR504 (Việt Nam): Hàm lượng tinh bột > 85%, độ ẩm < 10%. Enzyme α -amylase HT-800 (Trung Quốc) được sinh tổng hợp từ chủng *Bacillus licheniformis*, hoạt lực ≥ 80.000 U/ml, hoạt tính bền nhiệt từ 90 - 100°C

- Hoá chất: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck-Đức), Kali natri tartrate ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) (Merck-Đức), NaOH (Trung Quốc), xanh metylen (Merck - Đức).

2.2. Phương pháp phân tích

- Xác định nồng độ chất khô (%) bằng chiết quang kế theo TCVN 4414:1987 [9].

- Xác định độ nhớt của dịch thủy phân: Dịch tinh bột sau thủy phân rồi đem đo độ nhớt bằng máy đo độ nhớt Viscometer Brookfield DV-II (Mỹ) ở 80°C. Độ nhớt được biểu thị giá trị cP [2].

- Xác định giá trị DE theo phương pháp phân tích Lane - Eynon theo TCVN 10376:2014 [10].

Định nghĩa: DE là số đương lượng đường khử quy ra glucose được tạo thành trong quá trình thủy phân tinh bột tính theo phần trăm chất khô.

Cơ sở phương pháp: Glucose, maltose và các dextrin là các loại đường khử vì trong phân tử có nhóm aldehyde. Trong môi trường kiềm yếu đường khử dễ dàng khử ion Cu^{2+} thành Cu^+ dưới dạng kết tủa Cu_2O có màu đỏ nâu. Để xác định DE sử dụng dung dịch Fehling A có chứa Cu^{++} và dung dịch Fehling B có chứa Natri Kalitrat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) trong môi trường kiềm yếu. Vì thời gian phản ứng diễn ra rất nhanh (khoảng 2 phút) nên trong dung dịch vẫn còn dư Cu^{++} . Hiện tượng này có thể quan sát thấy nhờ khả năng tạo phức không màu của xanh metylen với dung dịch đường khử khi hết Cu^{++} . Cụ thể là thêm 2 - 3 giọt xanh metylen vào dung dịch phản ứng, khi vừa hết Cu^{++} , đường khử sẽ tạo phức không màu với xanh metylen làm cho màu của dung dịch từ màu xanh metylen chuyển thành màu trắng. Căn cứ vào đó ta kết thúc quá trình phản ứng. Dựa vào số ml dung dịch đường khử tiêu hao đem tra bảng Eynon-Lane sẽ tính được đương lượng đường khử quy ra glucose cần xác định. Lượng đường khử tính theo

glucose được tính theo phần trăm chất khô gọi là DE.

Giá trị DE được tính theo công thức:

$$DE = \frac{A \times 100}{B \times Bx} (\%)$$

Trong đó: A: Lượng đường khử tra bằng Lane-Enyon. B: Tỷ lệ pha loãng. Bx: Nồng độ chất khô hoà tan dịch (%).

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Tinh bột gạo được hoà với nước, tiến hành bổ sung enzyme α -amylase, nâng nhiệt hồ hoá và thủy phân tinh bột thành maltodextrin. Khảo sát các yếu tố nồng độ enzyme, nồng độ tinh bột, nhiệt độ, thời gian ảnh hưởng đến quá trình thủy phân. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của 1 yếu tố thì các yếu tố khác được cố định. Kết thúc quá trình

thủy phân, dịch tinh bột thủy phân được xác định giá trị DE, độ nhớt, nồng độ chất khô hoà tan.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu xác định nồng độ enzyme thích hợp trong quá trình thủy phân tạo maltodextrin DE12-15

Trong quá trình sản xuất maltodextrin, nồng độ enzyme có vai trò quyết định đến chất lượng sản phẩm. Để sản xuất được maltodextrin từ tinh bột gạo có DE 12 - 15 cần phải xác định được nồng độ enzyme phù hợp. Trong thí nghiệm, các thông số được cố định: Nồng độ dịch bột: 15%, nhiệt độ dịch hoá: 90°C, pH: 5,5, thời gian thủy phân: 30 phút, nồng độ enzyme được khảo sát: 0,01 - 0,05%. Kết quả được ghi trong bảng 1.

Bảng 1. Xác định nồng độ enzyme thích hợp trong quá trình thủy phân

TT	Nồng độ enzyme (%)	Nồng độ chất khô hoà tan (%)	DE	Độ nhớt (cP)
1	0,01	13,0	9,2	16
2	0,02	13,3	11,1	15
3	0,03	13,9	12,2	14
4	0,04	14,0	15,2	12
5	0,05	14,0	16,6	11

Kết quả bảng 1 cho thấy, nồng độ enzyme tỷ lệ thuận với chỉ số DE và tỷ lệ nghịch với độ nhớt, tức là khi nồng độ enzyme tăng thì DE cũng tăng và độ nhớt giảm. Tuy nhiên để đáp ứng yêu cầu sản phẩm maltodextrin có DE 12 - 15 thì nồng độ enzyme thích hợp được chọn là 0,03% để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Nghiên cứu xác định nồng độ tinh bột thích hợp trong quá trình thủy phân tạo maltodextrin DE12-15

Nồng độ cơ chất tinh bột là yếu tố có ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme, mỗi loại tinh bột khác nhau thì có thể có nồng độ thích hợp khác nhau trong quá trình thủy phân bằng

enzyme. Nếu hàm lượng tinh bột thấp, enzyme dễ dàng tiếp xúc và xúc tác phân hủy mạch tinh bột, phân cắt liên kết glucoside nhưng có thể thừa enzyme và loãng dịch gây tổn năng lượng khi thu hồi sản phẩm sau này. Nếu hàm lượng tinh bột quá cao, sẽ ngăn cản enzyme tiếp xúc với cơ chất, do đó làm hạn chế khả năng và tốc độ phản ứng thủy phân của enzyme. Trong quá trình thủy phân, nồng độ cơ chất ảnh hưởng đến chỉ số DE, độ nhớt của dịch thủy phân. Thí nghiệm thủy phân dịch tinh bột gạo được thực hiện ở các nồng độ dịch tinh bột khác nhau trong điều kiện sau: Nhiệt độ: 90°C, pH: 5,5, nồng độ enzyme: 0,03%, thời gian: 30 phút. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Xác định nồng độ dịch tinh bột thích hợp trong quá trình thủy phân

TT	Nồng độ cơ chất (%)	Nồng độ chất khô hoà tan (%)	DE	Độ nhớt (cP)
1	10	9,1	12,2	9
2	15	14,0	12,3	14
3	20	18,4	13,3	18
4	25	23,8	11,8	23
5	30	26,1	10,6	29

Bảng 2 cho thấy, khi nồng độ cơ chất thấp (10 - 20%), cho giá trị DE tương đương nhau, đạt yêu cầu đặt ra. Ở nồng độ cơ chất 10 - 15% độ nhớt thấp nhưng ở nồng độ bột thấp sẽ tổn dung tích thiết bị, năng lượng (điện, nước) trong quá trình thủy phân và cô đặc, làm ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế. Với nồng độ bột 20%, kết quả cho giá trị DE đạt yêu cầu, độ nhớt đảm bảo khuấy đảo được khối dịch và quá trình lọc được dễ dàng. Còn ở nồng độ tinh bột cao >25% thì chỉ số DE thấp hơn và độ nhớt cao gây khó khăn cho quá trình lọc. Vì vậy nồng độ cơ chất thích hợp là 20% là phù hợp để nghiên cứu các điều kiện tiếp theo.

3.3. Nghiên cứu xác định pH thích hợp trong quá trình thủy phân

pH có ảnh hưởng tới khả năng thủy phân của enzyme. Mỗi enzyme đều có pH hoạt động thích hợp, tại đó enzyme hoạt lực mạnh nhất. Mục đích của nghiên cứu này là xác định sự ảnh hưởng của pH tới quá trình thủy phân tinh bột của enzyme, từ đó chọn pH thích hợp cho thủy phân tinh bột gạo để sản xuất maltodextrin DE 12 - 15. Trong thí nghiệm này, dịch tinh bột gạo có nồng độ 20%, nồng độ enzyme α -amylase 0,03%, thời gian 30 phút, nhiệt độ 90°C, pH được khảo sát từ 4,5 - 6,5. Kết quả được ghi trong bảng 3

Bảng 3. Xác định pH thích hợp trong quá trình thủy phân

TT	pH thủy phân	Nồng độ chất khô hoà tan (%)	DE	Độ nhớt (cP)
1	4,5	15,9	9,1	25
2	5,0	18,2	12,0	19
3	5,5	18,5	13,4	18
4	6,0	17,6	11,1	20
5	6,5	16,1	10,5	22

Bảng 3 cho thấy: pH $\leq 4,5$ hoặc pH $\geq 6,0$ đều cho giá trị DE không đạt yêu cầu, mặt khác độ nhớt cao ảnh hưởng đến quá trình lọc. pH 5 - 5,5 cho kết quả thủy phân với giá trị DE đạt yêu cầu và độ nhớt thấp hơn, nhưng pH dịch hóa ở 5,5 cho kết quả tốt nhất và là pH của dịch tinh bột nên không phải điều chỉnh pH trong quá trình thủy phân. Vì vậy pH 5,5 được chọn cho quá trình thủy phân để sản xuất maltodextrin DE12-15.

3.4. Nghiên cứu xác định thời gian thích hợp trong quá trình thủy phân

Trong quá trình thủy phân, nếu thời gian thủy phân quá dài hoặc quá ngắn đều ảnh hưởng đến

chất lượng và chi phí năng lượng trong sản xuất. Trong quá trình dịch hóa, thời gian ngắn thì tinh bột chưa được thủy phân triệt để, DE sẽ không đạt yêu cầu và dịch có độ nhớt cao. Nếu thời gian thủy phân dài không mang lại hiệu quả gây lãng phí nhiệt năng, công lao động... Trong thí nghiệm này, tiến hành xác định ảnh hưởng của thời gian thích hợp đến quá trình thủy phân tinh bột gạo thành maltodextrin DE12 - 15, các thông số kỹ thuật được cố định là: Nồng độ tinh bột: 20%, pH: 5,5, nồng độ enzyme: 0,03%; nhiệt độ thủy phân 90°C, thời gian dịch hóa được khảo sát từ 10 - 30 phút. Kết quả ghi trong bảng 4.

Bảng 4. Xác định thời gian thích hợp trong quá trình thủy phân

STT	Thời gian (phút)	Nồng độ chất khô hoà tan (%)	DE	Độ nhớt (cP)
1	10	17,9	11,3	20
2	15	18,0	11,8	19
3	20	18,4	13,4	18
4	25	18,4	13,5	18
5	30	18,5	13,5	18

Bảng 4 cho thấy, với thời gian thủy phân 10 - 15 phút cho kết quả thủy phân chưa triệt để, giá trị DE thấp không đạt yêu cầu. Còn với thời gian dịch hóa 20 - 30 phút cho giá trị DE gần tương đương nhau và đạt yêu cầu, độ nhớt không thay đổi. Do vậy thời gian dịch hóa 20 phút là phù hợp nhất để sản xuất maltodextrin DE 12-15.

3.5. Nghiên cứu xác định nhiệt độ thích hợp trong quá trình thủy phân

Bảng 5. Xác định nhiệt độ thích hợp trong quá trình thủy phân

TT	Nhiệt độ thủy phân (°C)	Nồng độ chất khô hoà tan (%)	DE	Độ nhớt (cP)
1	75	15,0	7,1	29
2	80	16,9	9,2	24
3	85	17,8	11,6	20
4	90	18,4	13,3	18
5	95	18,5	13,5	18
6	100	18,0	11,9	19

Enzyme có bản chất là protein nên ở nhiệt độ quá cao sẽ bị biến tính làm hoạt tính của enzyme giảm. Còn ở nhiệt độ thấp 75 - 85°C enzyme hoạt động yếu nên mức độ thủy phân đạt chưa cao. Ở nhiệt độ 90 - 95°C là nhiệt độ tốt nhất cho quá trình thủy phân, mức độ thủy phân đạt cao nhất, chỉ số DE đạt yêu cầu. Ở nhiệt độ 100°C tốc độ thủy phân của enzyme bắt đầu giảm, bởi nhiệt độ cao gần tới ngưỡng của nhiệt độ bất hoạt enzyme. Do vậy, nhiệt độ thủy phân thích hợp được chọn để sản xuất maltodextrin DE12-15 là 90 - 95°C.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được các điều kiện thủy phân tinh bột gạo từ giống lúa IR504 dưới tác dụng của enzyme α -amylase HT-800 thành maltodextrin DE 12-15 với các thông số kỹ thuật cụ thể như sau: Nồng độ enzyme 0,03%, nồng độ cơ chất 20%, nhiệt độ 90°C, thời gian 20 phút và pH 5,5. Maltodextrin thu được có giá trị DE 13,3 - 13,5.

Nhiệt độ ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính enzyme trong quá trình thủy phân tinh bột. Mỗi enzyme có một nhiệt độ hoạt động tối ưu. Để tăng hiệu quả thủy phân trong sản xuất cần xác định nhiệt độ thích hợp cho enzyme. Điều kiện thực hiện thí nghiệm: Nồng độ tinh bột: 20%, pH: 5,5, nồng độ enzyme: 0,03%; thời gian thủy phân: 20 phút. Nhiệt độ thủy phân được khảo sát từ 75 - 100°C. Kết quả được thể hiện trong bảng 5.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abbas K., Sahar K., Hussin M., Shobirin A. (2010). Modified starches and their usages in selected food products: A review study. *Journal of Agricultural Science*, 2(2): 90 - 100.
2. Vũ Thị Thuận, Nguyễn Thị Minh Hạnh, Đỗ Trọng Hưng, Nguyễn Thuỳ Linh, Nguyễn Hoàng Phi, Lương Thị Như Hoa (2010). Sản xuất thử nghiệm tinh bột biến tính bằng công nghệ enzyme làm nguyên liệu công nghiệp dược, công nghiệp thực phẩm. Báo cáo tổng kết Dự án cấp Nhà nước, mã số: SXTN 01.08/CNSHCB, Viện Công nghiệp thực phẩm (Bộ Công thương).
3. Marchal L. M., Beftink H. H., Tramper J. (1999). Towards a rational design of commercial maltodextrins. *Trends in Food Science & Technology*, 10(11): 345 - 355.
4. Simonenko S. V., Antipova T. A., Felik S. V., Simonenko E. S. (2020). Maltodextrin as an

ingredient for baby food production. Study of composition and properties. Voprosy detskoy dietologii, 18(6): 54 - 59.

5. Lambri M., Dordoni R., Roda A., De Faveri D. M. (2014). Process development for maltodextrins and glucose syrup from cassava. Chem. Eng. Trans, 38: 469 - 474

6. Litvyak V.V., Potoroko I.Y., Ruskina A. A. (2024). Production and research of maltodextrins. Bulletin of the South Ural State University Series Food and Biotechnology, 12(4): 22 - 31.

7. Moore G., Canto L., Amante E., Soldi V. (2005). Cassava and corn starch in maltodextrin

production. Quim. Nova, 28(4): 596 - 600

8. Tensiska T., Marta H., Farhani N. (2016). Production and characterisation of maltodextrin from corn starch by enzymatic hydrolysis method. Available: www.researchgate.net/publication/325359134

9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4414:1987. Đồ hộp - Xác định hàm lượng chất khô hòa tan bằng khúc xạ kế

10. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10376:2014 (ISO5377:1981). Sản phẩm thủy phân từ tinh bột - Xác định khả năng khử và đương lượng dextrose - Phương pháp chuẩn độ hằng số Lane và Eynon.

RESEARCH ON CONDITIONS OF RICE STARCH HYDROLYSIS INTO MALTODEXTRIN BY α -AMYLASE HT-800

Do Trong Hung¹, Nguyen Thuy Linh¹,

Nguyen Hoang Phi¹, Luong Thi Nhu Hoa¹

¹Food Industries Research Institute (FIRI)

Abstract

Maltodextrin was a product of starch hydrolysis by amylase enzyme at different hydrolysis degrees expressed by dextrose equivalent index (DE). Depending on the purpose of application and market demand, maltodextrin products with different DE index were produced. Maltodextrin with different DE ranges have different characteristics of product. In this research, maltodextrin with DE 12-15 was hydrolyzed from rice starch of IR504 rice variety in Vietnam under the reaction of α -amylase enzyme HT-800 (China)- a new commercial enzyme with heat stability and activity. The suitable hydrolysis conditions were determined: Enzyme concentration 0.03%, substrate concentration 20%, temperature 90°C, time 20 minutes and pH 5.5. The resulting with maltodextrin had DE index of 13.3 - 13.5.

Keywords: *Maltodextrin, dextrose equivalent (DE), rice starch, starch hydrolysis, α -amylase HT0-800.*

Ngày nhận bài: 23/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 26/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 28/7/2025

Ngày duyệt đăng: 7/8/2025

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ THÔNG SỐ CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC ÉP BƯỞI DIỄN ĐÓNG CHAI

Lương Hùng Tiến^{1*}, Phạm Thị Hà¹, Trần Thị Hằng², Hồ Phú Hà³

¹ Viện Công nghệ Sinh học - Công nghệ Thực phẩm,

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

² Trường Cao đẳng Thương mại và Du lịch Thái Nguyên

³ Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách Khoa Hà Nội

* Email: luonghungtien@tuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Bài báo trình bày quy trình công nghệ sản xuất nước ép bưởi Diễn đóng chai nhằm tối ưu hóa chất lượng cảm quan, giá trị dinh dưỡng và độ ổn định trong bảo quản. Quy trình bao gồm các bước: Chần múi bưởi bằng NaOH 1% trong 40 giây, pha loãng dịch bưởi theo tỷ lệ 1: 1, phối chế với 12,5% đường và 0,35% axit citric, bổ sung 0,1% CMC, đồng hóa trong 10 phút và thanh trùng ở 85°C trong 6 phút. Sản phẩm thu được đạt tiêu chuẩn cảm quan cao, đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm và ổn định trong bảo quản tại nhiệt độ 4 - 7°C đến 14 ngày. Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học để triển khai sản xuất nước ép bưởi Diễn quy mô vừa và nhỏ tại các vùng nguyên liệu.

Từ khoá: Bưởi Diễn, khử đắng, nước ép trái cây, ổn định cảm quan, thanh trùng nhiệt.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước ép trái cây là một trong những dòng sản phẩm thực phẩm tự nhiên có tiềm năng phát triển mạnh mẽ nhờ vào giá trị dinh dưỡng cao và tính tiện dụng. Trong đó, các loại quả thuộc họ cam chanh (Citrus) như cam, quýt, bưởi được đánh giá cao do giàu vitamin C, flavonoid và các hợp chất chống oxy hóa có lợi cho sức khỏe [1]. Tuy nhiên, việc bảo quản và chế biến nước ép từ các loại trái cây này vẫn đối mặt với những thách thức lớn về duy trì chất lượng cảm quan, bảo toàn hoạt tính sinh học và đảm bảo an toàn vi sinh trong suốt quá trình lưu trữ [2].

Bưởi Diễn là giống bưởi bản địa đặc hữu của miền Bắc Việt Nam, được ưa chuộng nhờ vị ngọt thanh, tép giòn và mùi thơm đặc trưng. Tuy nhiên, việc chế biến sản phẩm nước ép từ bưởi Diễn gặp nhiều khó khăn kỹ thuật, chủ yếu do hàm lượng naringin và limonin cao gây vị đắng đặc trưng, cùng với nguy cơ phân lớp, mất màu và giảm giá trị dinh dưỡng trong quá trình xử lý nhiệt [2, 3]. Những vấn đề này đòi hỏi phải có các giải pháp công nghệ phù hợp, từ lựa chọn điều kiện chần, tỷ lệ pha loãng, bổ sung chất ổn định đến kiểm soát điều kiện đồng hóa và thanh trùng [4].

Bên cạnh các thách thức kỹ thuật, Việt Nam hiện vẫn chưa có nhiều nghiên cứu chuyên sâu và hệ thống về chế biến nước ép từ giống bưởi Diễn. Theo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (trước đây), tổn thất sau thu hoạch của trái cây tại Việt Nam có thể lên tới 20 - 30%, chủ yếu do hạn chế về công nghệ bảo quản và quy trình chế biến chưa được chuẩn hóa [5]. Trong bối cảnh người tiêu dùng ngày càng ưu tiên các sản phẩm nguồn gốc tự nhiên, không chất bảo quản, tiện lợi và có hàm lượng dinh dưỡng cao, nước ép bưởi đóng chai là một hướng đi tiềm năng để đa dạng hóa sản phẩm chế biến từ bưởi. Tuy nhiên, yêu cầu cao về chất lượng cảm quan, tính ổn định trong bảo quản và an toàn vi sinh khiến việc phát triển dòng sản phẩm này cần có nền tảng khoa học vững chắc. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh vai trò quan trọng của các yếu tố như tỷ lệ pha loãng, mức bổ sung chất ổn định như CMC, nhiệt độ chần và điều kiện thanh trùng trong việc cải thiện độ ổn định và chất lượng nước ép [6, 7].

Tuy nhiên, với đặc thù về thành phần hóa học và cấu trúc mô riêng biệt, việc áp dụng quy trình chế biến từ các giống bưởi khác chưa chắc phù hợp cho bưởi Diễn. Do đó, cần có nghiên cứu

chuyên biệt nhằm xây dựng quy trình công nghệ tối ưu cho giống bưởi này, không chỉ mang lại hiệu quả kỹ thuật mà còn có khả năng triển khai thực tế trong sản xuất quy mô vừa và nhỏ.

Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xây dựng quy trình công nghệ sản xuất nước ép bưởi Diễn đóng chai ở quy mô phòng thí nghiệm, làm cơ sở khoa học cho việc mở rộng quy mô công nghiệp, đồng thời góp phần giảm tổn thất sau thu hoạch và gia tăng giá trị sản phẩm nông nghiệp bản địa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, hóa chất, thiết bị nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu: Quả bưởi Diễn được thu hái từ xã Đắc Sơn, huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang, có đặc điểm vỏ mỏng, tép mọng nước, vị ngọt đậm và độ Brix dao động từ 9 - 11%. Bưởi sau khi thu hoạch được chọn lọc loại bỏ quả sâu, bệnh, rửa sạch, bảo quản ở nhiệt độ 10 - 12°C và sử dụng trong vòng 48 giờ để đảm bảo chất lượng.

Hóa chất và phụ gia: NaOH tinh khiết (Công ty Hóa chất Việt Mỹ), axit citric (E330 – Cargill, Trung Quốc), Carboxymethyl cellulose (CMC – Hóa chất thực phẩm Foodchem, Trung Quốc), Đường saccharose trắng (Vinabeco, Việt Nam), nước tinh khiết xử lý bằng hệ thống lọc RO tại phòng thí nghiệm.

Thiết bị nghiên cứu: Máy xay sinh tố đa năng Philips HR2118, túi vải lọc hai lớp, khung inox, Máy đo pH Hanna HI2211, máy đo độ nhớt Brookfield DV1, máy chiết quang kế Atago PAL-1 đo độ Brix, hệ thống thanh trùng cách thủy 85°C - 95°C, chai thủy tinh 360 mL tiệt trùng bằng hơi nước, tủ lạnh bảo quản mẫu hiệu Sanaky ($4 \pm 1^\circ\text{C}$).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp bố trí thí nghiệm: Sử dụng thiết kế hoàn nguyên, mẫu đối chứng và ba lần lặp lại đối với mỗi yếu tố kỹ thuật (nồng độ NaOH (0,5%,

1%, 1,5%), thời gian chần (20 giây, 40 giây, 60 giây tại nhiệt độ 55°C), tỷ lệ pha loãng (1: 0,5; 1: 1; 1: 1,5 (dịch nguyên chất: nước tinh khiết)), tỷ lệ CMC (0,05%; 0,1%; 0,15% w/v), thời gian đồng hóa, điều kiện thanh trùng.

Phương pháp đánh giá cảm quan: Theo TCVN 3215-79 [8], đánh giá các chỉ tiêu: màu sắc, mùi, vị và trạng thái dịch thể bằng thang điểm hedonic 9 mức bởi hội đồng 15 người, độ tuổi trung bình từ 20 - 35 tuổi, có kiến thức chuyên môn về lĩnh vực thực phẩm.

Phân tích hóa lý: pH: đo bằng máy pH để bàn (Hanna); hàm lượng axit tổng số: Chuẩn độ với NaOH 0,1N và chỉ thị phenolphthalein; hàm lượng đường tổng số: Phương pháp Bertrand cải tiến; vitamin C: Chuẩn độ iod; độ nhớt: Đo ở 25°C bằng máy Brookfield DV1.

Phân tích vi sinh: Kiểm tra tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884-1:2015 [9] bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch PCA.

Phân tích thống kê: Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel 2019 và Minitab 18, phân tích phương sai (ANOVA) và xác định sai số chuẩn.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát nồng độ NaOH và thời gian chần

Việc xử lý tiền chế biến bằng dung dịch NaOH đóng vai trò quyết định trong việc cải thiện chất lượng cảm quan của nước ép bưởi, đặc biệt là khử vị đắng do các hợp chất flavonoid như naringin và limonin. Trong nghiên cứu này, các mức nồng độ NaOH (0,5%; 1,0%; 1,5%) được kết hợp với thời gian chần khác nhau (20, 40 và 60 giây). Kết quả tại Bảng 1 cho thấy, điều kiện chần bằng NaOH 1% trong 40 giây là tối ưu, mang lại cảm quan tổng hợp cao nhất, đồng thời duy trì được màu sắc sáng và cấu trúc tép bưởi.

Bảng 1. Kết quả đánh giá điểm cảm quan của dịch bưởi sau khi chần

Thời gian chần	Nồng độ NaOH (%)	Màu	Mùi	Vị	Trạng thái	ĐTBCTL	Xếp loại
20	0	4,5 ^d	4,6 ^e	2,2 ^a	4,0 ^a	15,4	Khá
	0,5	4,5 ^d	4,5 ^e	2,8 ^{bc}	4,0 ^a	15,9	Khá
	1	4,3 ^{cd}	4,2 ^d	3,5 ^d	4,1 ^a	16,14	Khá

	1,5	4,0 ^{ab}	3,7 ^{ab}	3,9 ^d	4,3 ^a	15,84	Khá
40	0	4,3 ^{cd}	4,5 ^e	2,3 ^a	4,0 ^a	15,16	Trung bình
	0,5	4,2 ^{bc}	4,3 ^{de}	2,7 ^{ab}	4,1 ^a	15,32	Khá
	1	4,0 ^{ab}	4,0 ^{cd}	4,0 ^{de}	4,3 ^a	16,24	Khá
	1,5	3,8 ^a	3,6 ^a	4,1 ^e	4,3 ^a	15,7	Khá
60	0	3,8 ^a	4,2 ^d	2,6 ^a	4,1 ^a	14,64	Trung bình
	0,5	3,9 ^a	3,9 ^{bc}	2,9 ^c	4,2 ^a	14,18	Trung bình
	1	3,7 ^a	3,5 ^a	3,8 ^d	4,2 ^a	15,1	Trung bình
	1,5	3,5 ^a	3,4 ^a	4,1 ^e	4,1 ^a	14,98	Trung bình

Ghi chú: Trong cùng một cột, các kết quả có chung ít nhất một chữ cái thì không khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$, ĐTBCTL là điểm trung bình có trọng lượng.

Mức nồng độ thấp hơn (0,5%) không loại bỏ triệt để vị đắng, trong khi mức cao hơn (1,5%) gây hiện tượng mềm nhũn, làm giảm độ giòn và cảm quan. Ngoài ra, chần quá lâu (60 giây) làm tăng nguy cơ hòa tan chất rắn vào nước chần, gây mất mát chất dinh dưỡng. Điều này cũng phù hợp với kết luận của Vijaykumar và cs (2014) [10], trong đó chỉ ra rằng nồng độ kiềm trung bình và thời gian ngắn là hiệu quả nhất trong khử naringin mà không phá hủy cấu trúc mô tế bào quả.

Một vấn đề quan trọng cần lưu ý là quá trình chần có thể kích hoạt sự hình thành "đắng chậm" do thủy phân các tiền chất limonoid như limonoate

A-ring lactone (LARL) – dẫn đến sự tái xuất hiện vị đắng sau vài ngày bảo quản. Theo Maria và cs (2008) [2], nhiệt độ và thời gian xử lý cần được kiểm soát nghiêm ngặt để tránh quá trình này. Điều đó càng nhấn mạnh giá trị của mức chần 40 giây ở nồng độ 1%, vì đây là khoảng thời gian đủ để khử vị đắng nhưng không vượt ngưỡng kích hoạt phản ứng bất lợi.

Kết quả phân tích vi sinh sau quá trình chần cũng cho thấy, tổng số vi sinh vật hiếu khí giảm 1,2 log CFU/mL, chứng minh hiệu quả diệt trùng sơ bộ trước khi chế biến. Đây là yếu tố quan trọng góp phần nâng cao an toàn vệ sinh thực phẩm.



Hình 1. Bưởi trước và sau khi chần bằng NaOH ở các nồng độ và thời gian khác nhau

3.2. Tỷ lệ pha loãng dịch bưởi

Tỷ lệ pha loãng dịch quả là một trong những yếu tố then chốt ảnh hưởng trực tiếp đến các đặc tính cảm quan và hóa lý của nước ép. Trong nghiên cứu này, dịch bưởi sau chần và ép được pha

loãng với nước theo các tỷ lệ khối lượng (dịch nguyên chất: nước) gồm 1: 0,5; 1: 1; 1: 1,5 và 1: 2. Các mẫu sau phối chế được đánh giá cảm quan và phân tích hóa lý để xác định tỷ lệ tối ưu.

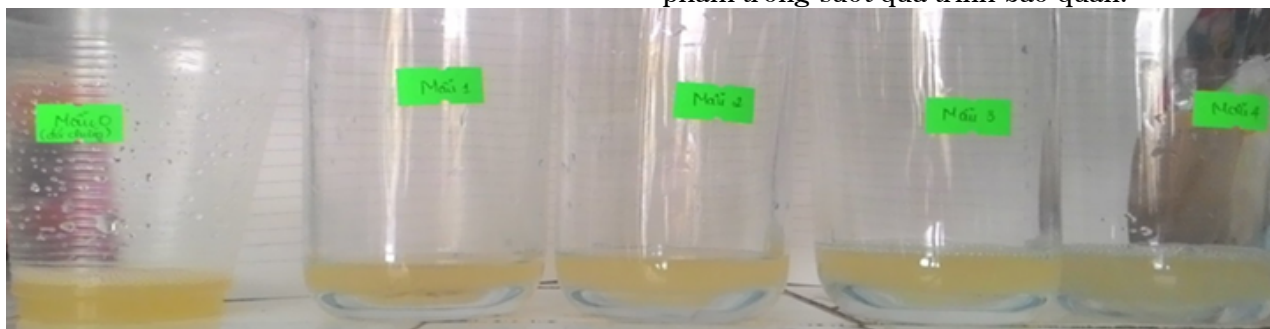
Kết quả cảm quan cho thấy tỷ lệ 1: 1 mang lại sự cân bằng tốt nhất giữa vị, màu và mùi thơm. Cụ thể, mẫu này đạt điểm ưa thích trung bình cao nhất (8,4/9) về vị, do giữ được độ đậm đặc vừa phải mà không gây ngọt gắt hay loãng vị. Ở tỉ lệ pha loãng 1: 0,5 và mẫu đối chứng không pha loãng do có độ đặc cao và vị đắng còn nhiều (do tỉ lệ dịch quả cao) nên không được ưa thích nhiều. Ở các độ pha loãng 1: 1,5 và 1: 2 do tỉ lệ dịch quả thấp nên màu sắc, mùi và vị đều giảm và hỗn hợp sau khi pha loãng có độ pha loãng cao nên ít được ưa thích.

Về mặt hóa lý, tỷ lệ 1: 1 giúp ổn định độ Brix ở mức $9,2 \pm 0,2^\circ\text{Brix}$ - phù hợp với tiêu chuẩn nước ép quả pha loãng của Codex ($\geq 8^\circ\text{Brix}$). Mức pH dao động 4,2 - 4,3 là vùng ổn định sinh học, giúp hạn chế phát triển vi sinh vật trong quá trình bảo

quản. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả của nghiên cứu của Ali Anwar và cs (2024) [7], trong đó, nhấn mạnh vai trò của pha loãng hợp lý để duy trì giá trị dinh dưỡng và cảm quan đồng thời hỗ trợ hiệu quả thanh trùng.

Ngoài ra, khi phân tích độ nhớt, mẫu 1: 1 cũng có chỉ số dao động ổn định ($40 \pm 2 \text{ mPa.s}$), dễ uống và có độ sánh nhẹ hấp dẫn, khác biệt rõ rệt so với mẫu 1: 0,5 có độ nhớt cao gây cảm giác đặc quánh, mẫu 1: 2 có độ nhớt thấp, dễ phân lớp. Việc giữ nguyên tỷ lệ 1: 1 trong phối chế tiếp theo cho phép tối ưu hóa các yếu tố khác (đường, axit, CMC).

Các kết quả trên cho thấy tỷ lệ pha loãng 1: 1 là tối ưu, đảm bảo sự hài hòa giữa cảm quan, chất lượng dinh dưỡng và tính ổn định vật lý của sản phẩm trong suốt quá trình bảo quản.



Hình 2. Nước bưởi khi pha loãng ở các tỉ lệ khác nhau

3.3. Phối chế đường và axit

Đường và axit hữu cơ không chỉ quyết định vị của nước ép mà còn ảnh hưởng đến độ ổn định, pH và khả năng bảo quản sản phẩm. Trong nghiên cứu này, các mức đường từ 10 - 13% và axit citric từ 0,3 - 0,4% được thử nghiệm để xác định tỷ lệ phối chế tối ưu.

Kết quả cho thấy, tỷ lệ 12,5% đường và 0,35% axit citric là phù hợp nhất để tạo nên vị chua ngọt hài hòa, đồng thời duy trì pH trong khoảng 4,2 - 4,3 - mức giới hạn tối ưu để hạn chế sự phát triển của vi sinh vật và tăng hiệu quả thanh trùng. Mức đường thấp hơn khiến sản phẩm có vị gắt, chưa đủ độ ngọt để cân bằng vị chua tự nhiên, trong khi mức đường trên 13% làm cho nước ép ngọt gắt, giảm tính tự nhiên và dễ bị đánh giá là “ngọt nhân tạo” trong đánh giá cảm quan.

Cùng với đó, bổ sung axit citric ở mức 0,35% không chỉ hỗ trợ vị chua nhẹ dễ chịu mà còn đóng

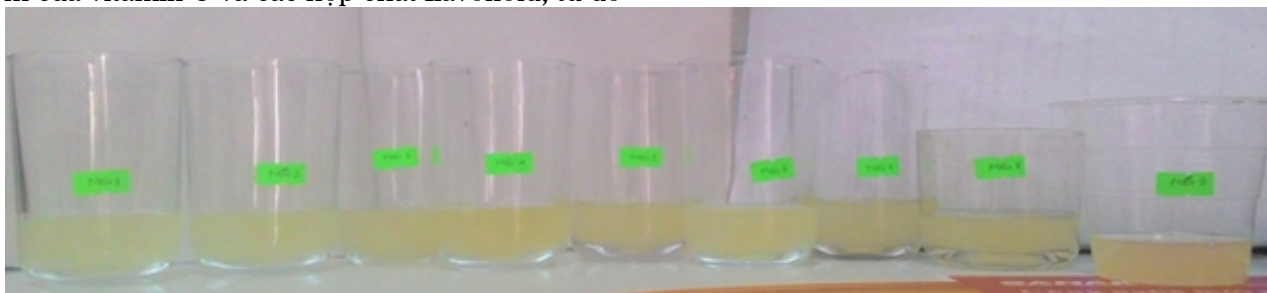
vai trò ổn định hệ đệm pH - giúp giữ cho sản phẩm không bị thay đổi màu và trạng thái trong suốt 14 ngày bảo quản. Nghiên cứu của Ahmed Humayun và cs (2014) [11] cũng nhấn mạnh rằng axit citric là axit thực phẩm lý tưởng cho nước trái cây nhờ khả năng ổn định vitamin C và tăng hiệu quả bảo quản vi sinh.

Đánh giá cảm quan cho thấy, mẫu phối chế ở mức này đạt điểm trung bình 8,5/9 về vị và 8,3/9 về mùi, nhờ vào sự cân bằng giữa các hợp chất hòa tan và tính axit vừa phải, không gây cảm giác gắt. Sản phẩm giữ được màu vàng cam sáng đặc trưng của bưởi Diễn, không xảy ra hiện tượng đục hay tách lớp. Phân tích hóa lý cũng cho thấy độ Brix đạt $9,2 \pm 0,2^\circ\text{Brix}$ - mức chấp nhận được cho nước ép trái cây đóng chai thương mại.

So sánh với các nghiên cứu của Maria và cs (2008) [2], việc phối chế tỷ lệ đường - axit thích hợp không chỉ là yếu tố cảm quan mà còn ảnh

hưởng đến độ ổn định oxy hóa của sản phẩm. Việc kiểm soát tốt tỷ lệ này giúp giảm quá trình oxy hóa sớm của vitamin C và các hợp chất flavonoid, từ đó

kéo dài thời gian bảo quản không cần dùng chất bảo quản nhân tạo.



Hình 3. Sản phẩm nước bưởi ở các mức phối chế đường và axit citric

3.4. Bổ sung CMC

Carboxymethyl cellulose (CMC) là chất ổn định phổ biến trong ngành đồ uống trái cây do khả năng cải thiện độ nhớt, ổn định pha keo và hạn chế hiện tượng phân lớp. Trong nghiên cứu này, các mức CMC 0,05%, 0,1% và 0,15% được thử nghiệm để xác định hàm lượng tối ưu cho sản phẩm nước ép bưởi.

Kết quả cho thấy, ở mức 0,1%, CMC giúp tạo ra hệ thống keo ổn định, duy trì trạng thái đồng nhất trong 10 ngày đầu bảo quản và hạn chế hiện tượng tách lớp đến ngày thứ 14. Mức 0,05% không đủ tạo mạng gel ổn định, trong khi mức 0,15% tạo độ nhớt cao gây cảm giác dính, khó uống và điểm cảm quan về trạng thái giảm xuống 7,6/9. Độ nhớt của mẫu 0,1% ổn định ở mức 40 ± 2 mPa.s - phù

hợp với tiêu chuẩn kỹ thuật cho đồ uống có pha dịch quả.

Bên cạnh đó, việc bổ sung CMC còn giúp cải thiện cảm quan thị giác: Mẫu có màu sáng hơn, tránh hiện tượng đục lắng của dịch treo. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Vijaykumar và cs (2014) [10], trong đó ghi nhận rằng CMC ở mức 0,08 - 0,12% giúp cải thiện đồng đều trạng thái vật lý trong nước ép cam, bưởi và các loại quả họ citrus.

Phân tích cảm quan cho thấy mẫu bổ sung 0,1% CMC đạt điểm cao nhất ở trạng thái (8,3/9), màu sắc (8,2/9), cảm nhận miệng dễ chịu. Mẫu đạt mức yêu thích “rất thích” theo thang điểm hedonic.

Bảng 2. Kết quả khảo sát CMC (Cacboxy methyl cellulose)

	Nồng độ CMC bổ sung (%)			
	Mẫu 1 (0%)	Mẫu 2 (0,05%)	Mẫu 3 (0,1%)	Mẫu 4 (0,15%)
	Sau 1 ngày dịch bưởi bị lắng cặn, nhưng không tách lớp rõ	Sau 3 ngày bị lắng cặn nhỏ dưới đáy chai, nhưng không tách lớp rõ	Sau 5 ngày chưa xuất hiện cặn lắng, dịch bưởi đồng nhất, ổn định	Sau 5 ngày chưa xuất hiện cặn lắng, dịch bưởi đồng nhất, ổn định

Việc kiểm soát chính xác nồng độ CMC không chỉ giúp ổn định pha phân tán mà còn ảnh hưởng đến sự giữ màu sắc và hoạt tính sinh học của hợp chất flavonoid, do hạn chế oxy tiếp xúc với dịch treo - một yếu tố quan trọng trong ổn định vitamin C và hương liệu bay hơi tự nhiên.

3.5. Đồng hóa

Đồng hóa là quá trình cơ học giúp phân tán các hạt rắn hoặc giọt chất lỏng nhỏ vào trong pha liên tục, từ đó tạo ra hệ nhũ tương hoặc hệ keo ổn định. Trong sản xuất nước ép bưởi, quá trình này có vai trò quan trọng trong việc ổn định cấu trúc dịch quả, ngăn ngừa phân lớp và cải thiện cảm giác miệng.

Bảng 3. Kết quả thời gian đồng hóa

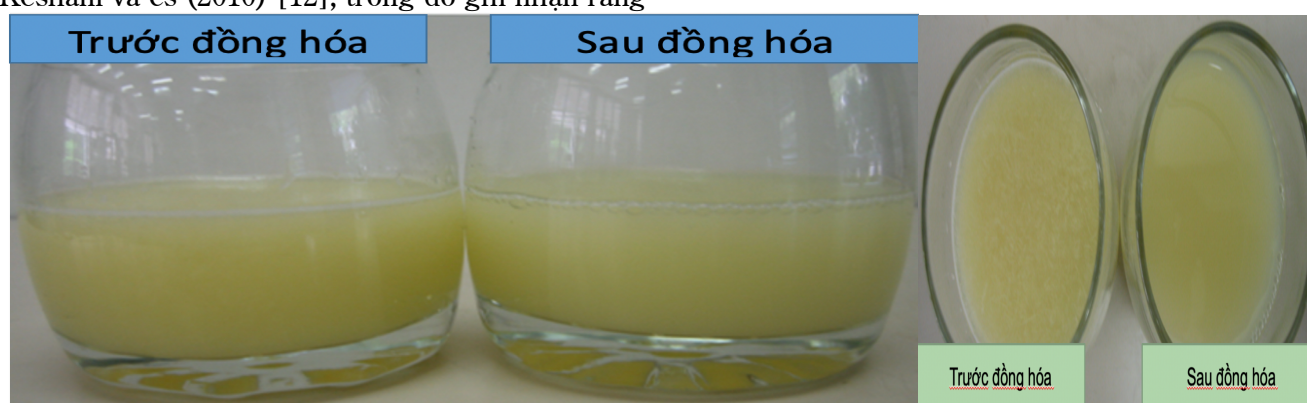
Hiện tượng	Thời gian đồng hóa (phút)			
	Mẫu 1 (0 phút)	Mẫu 2 (5 phút)	Mẫu 3 (10 phút)	Mẫu 4 (15 phút)
	Sau 7 giờ xuất hiện cặn lắng, nhưng chưa nhìn thấy sự tách lớp trong chai. Sau 3 ngày bắt đầu thấy sự tách lớp nhưng không rõ rệt	Sau 2 ngày bắt đầu xuất hiện cặn lắng nhưng không thấy sự tách lớp. Sau 3 ngày thì thấy sự tách lớp nhưng không rõ.	Sau 5 ngày chưa thấy sự tách lớp	Sau 5 ngày chưa thấy sự tách lớp

Nghiên cứu tiến hành đồng hóa dịch ép bưởi ở các khoảng thời gian: 5, 10 và 15 phút với tốc độ quay cố định. Kết quả cảm quan và phân tích hóa lý cho thấy thời gian 10 phút là tối ưu, đạt điểm cảm quan cao nhất ở chỉ tiêu trạng thái (8,5/9), vị (8,4/9) và cảm giác miệng (8,3/9). Thời gian đồng hóa ngắn hơn (5 phút) chưa đủ để phá vỡ hoàn toàn các cụm sợi cellulose tự nhiên của tép bưởi, dẫn đến hiện tượng lắng nhẹ sau 3 ngày bảo quản. Trong khi đó, thời gian 15 phút không cải thiện đáng kể tính đồng nhất nhưng làm tăng độ nhớt vượt ngưỡng dễ uống (kết quả xác định độ nhớt đạt trên 45 mPa.s) và hao phí năng lượng trong quá trình chế biến không cần thiết.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Keshani và cs (2010) [12], trong đó ghi nhận rằng

đồng hóa ngắn (8 - 12 phút) đủ để tạo sự phân tán ổn định cho các hợp chất polyphenol trong nước ép citrus mà không phá hủy cấu trúc hương tự nhiên. Ngoài ra, đồng hóa còn giúp phân tán đều các chất bổ sung như CMC, đường và axit, góp phần ổn định trạng thái vật lý và đồng nhất màu sắc của sản phẩm [13]. Dưới kính hiển vi quang học, dịch bưởi sau đồng hóa 10 phút cho thấy kích thước tiểu phân phân tán đều từ 5 - 10 μm , không có sự kết tụ hoặc tạo giọt lớn.

Độ nhớt dịch bưởi sau đồng hóa 10 phút duy trì ở mức lý tưởng (40 ± 2 mPa.s), tạo cảm giác miệng sánh nhẹ, dễ chịu. Phản hồi người tiêu dùng thử nghiệm ($n = 15$) cũng cho thấy mức độ hài lòng cao nhất ở mẫu này.



Hình 4. Sự thay đổi màu sắc và trạng thái của nước bưởi trước và sau đồng hoá

3.6. Thanh trùng và bảo quản

Thanh trùng là bước quan trọng trong quy trình sản xuất nước ép nhằm tiêu diệt vi sinh vật gây hư hỏng, kéo dài thời hạn sử dụng và đảm bảo

an toàn thực phẩm. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của 4 mức nhiệt độ (75°C, 80°C, 85°C và 95°C) với các thời gian thanh trùng khác nhau (4, 6 và 8 phút) đến chất lượng vi sinh và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm.

Bảng 4. Kết quả đánh giá cảm quan của sản phẩm sau khi thanh trùng

Công thức	Màu	mùi	Vị	Trạng thái	ĐTBCTL	Xếp loại
Mẫu 1 (75°C - 4 phút)	4,5 ^a	4,5 ^a	4,3 ^a	4,5 ^a	17,8	Khá
Mẫu 2(75°C - 6 phút)	4,4 ^a	4,3 ^a	4,4 ^a	4,6 ^a	17,66	Khá
Mẫu 3(75°C - 8 phút)	4,4 ^a	4,2 ^a	4,2 ^a	4,5 ^a	17,28	Khá
Mẫu 4 (80°C - 4 phút)	4,4 ^a	4,3 ^a	4,4 ^a	4,6 ^a	17,66	Khá
Mẫu 5(80°C - 6 phút)	4,5 ^a	4,1 ^a	4,2 ^a	4,7 ^a	17,46	Khá
Mẫu 6(80°C - 8 phút)	4,3 ^a	4,2 ^a	4,2 ^a	4,8 ^a	17,4	Khá
Mẫu 7 (85°C - 4 phút)	4,4 ^a	4,3 ^a	4,4 ^a	4,7 ^a	17,74	Khá
Mẫu 8 (85°C - 6 phút)	4,6 ^a	4,3 ^a	4,5 ^a	4,8 ^a	18,16	Khá
Mẫu 9 (85°C - 8 phút)	4,4 ^a	4,2 ^a	4,1 ^a	4,5 ^a	17,18	Khá
Mẫu 10(90°C - 4 phút)	4,3 ^a	4,2 ^a	4,1 ^a	4,5 ^a	17,06	Khá
Mẫu 11(90°C - 6 phút)	4,2 ^a	4,1 ^a	4,2 ^a	4,6 ^a	17,02	Khá
Mẫu 12(90°C - 8 phút)	4,2 ^a	4,1 ^a	4,1 ^a	4,5 ^a	16,84	Khá

Ghi chú: Trong cùng một cột, các kết quả có chung ít nhất một chữ cái thì không khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$, ĐTBCTL là điểm trung bình có trọng lượng.

Kết quả cho thấy, điều kiện thanh trùng ở 85°C trong 6 phút là tối ưu. Ở điều kiện này, tổng số vi sinh vật hiếu khí giảm về < 1 CFU/mL, nấm men và nấm mốc không phát hiện trong suốt 14 ngày bảo quản ở 4°C, đảm bảo theo giới hạn quy định của Thông tư 35/2010/TT-BYT [13]. Trong

khí đó, mẫu thanh trùng ở 75°C còn tồn tại vi sinh vật gây hư hỏng sau 7 ngày. Mức nhiệt 95°C tuy khử khuẩn hiệu quả nhưng làm biến đổi cảm quan: Màu sắc sẫm lại, mùi thơm đặc trưng giảm và vị hơi gắt do phản ứng Maillard nhẹ bắt đầu xảy ra [14].

Bảng 5. Theo dõi chỉ tiêu vi sinh vật hiếu khí của các mẫu sau khi thanh trùng trong thời gian bảo quản

Nhiệt độ thanh trùng (°C)	Thời gian giữ nhiệt (phút)	Khuẩn lạc/ml			
		Thời gian bảo quản ở 3 – 5°C (tuần)			
		Sau khi làm nguội	1	2	3
75	4	-	1,45.10 ²	+	+
	6	-	1,36.10 ²	+	+
	8	-	1,3.10 ²	+	+
	4	-	1,1.10 ²	+	+

80	6	-	-	$0,45.10^2$	+
	8	-	-	-	+
85	4	-	-	$0,36.10^2$	+
	6	-	-	-	+
	8	-	-	-	+
90	4	-	-	-	+
	6	-	-	-	+
	8	-	-	-	+

Ghi chú: Dấu (-) là chưa có vi sinh vật khi kiểm tra mẫu; Dấu (+) là không theo dõi.

Phân tích hóa lý cho thấy, vitamin C trong mẫu thanh trùng 85°C giảm 4,6% so với mẫu chưa xử lý nhiệt (28,6 mg% so với 30,0 mg%). Đây là mức tổn thất chấp nhận được, phù hợp với công bố của Maria và cs (2008) [2], trong đó nêu rõ rằng thanh trùng ở 80 - 85°C trong thời gian ngắn giúp cân bằng giữa hiệu quả tiệt trùng và bảo toàn chất chống oxy hóa.

Đánh giá cảm quan cho thấy, mẫu thanh trùng 85°C đạt điểm cao nhất (8,5/9 về vị; 8,3/9 về màu sắc theo thang điểm Hedonic và 18,16 điểm tổng cảm quan theo TCVN 3215-79 [9]). Các mẫu ở nhiệt độ cao hơn bị chấp nhận thấp hơn về màu và mùi. Sản phẩm sau thanh trùng duy trì trạng thái đồng nhất, không có hiện tượng phân lớp hay kết tủa trong 14 ngày.

Như vậy, điều kiện 85°C trong 6 phút được xác định là lý tưởng để kết hợp hiệu quả giữa chất lượng vi sinh, cảm quan và giá trị dinh dưỡng của nước ép bưởi. Kết quả này có thể mở rộng áp dụng ở quy mô công nghiệp với hệ thống thanh trùng dạng ống hoặc xử lý nhiệt nhanh (HTST).

3.7. Đánh giá chất lượng sản phẩm hoàn chỉnh

Sau khi áp dụng đầy đủ quy trình tối ưu gồm: chần NaOH 1% trong 40 giây, pha loãng tỷ lệ 1: 1, phối chế với 12,5% đường và 0,35% axit citric, bổ sung 0,10% CMC, đồng hóa 10 phút và thanh trùng ở 85°C trong 6 phút, sản phẩm nước ép bưởi Diễn đóng chai đã được đánh giá toàn diện về cảm quan, chỉ tiêu hóa lý, vi sinh vật và khả năng ổn định trong bảo quản lạnh ($4 \pm 1^\circ\text{C}$).

Về mặt cảm quan, sản phẩm đạt màu vàng sáng tự nhiên, không đục, không lắng. Hương thơm đặc trưng của bưởi Diễn được giữ gần như

nguyên vẹn. Vị chua ngọt cân bằng, không còn vị đắng, cảm giác miệng mịn và sảng nhẹ. Tổng điểm cảm quan trung bình đạt 8,6/9 - mức đánh giá “rất thích” theo thang đo hedonic.

Bảng 6. Chỉ tiêu hoá lý của sản phẩm sau bảo quản 14 ngày

Chỉ tiêu	Hàm lượng
Hàm lượng axit (%)	$0,14 \pm 0,02$
Hàm lượng đường (g/l)	$30 \pm 0,5$
Vitamin C (mg%)	$28,6 \pm 0,1$
pH	$4,22 \pm 0,03$
Nồng độ chất khô hòa tan (°Brix)	$11 \pm 0,1$
Vi sinh vật (cfu)	0
Độ nhớt (mPa.s)	40 ± 2

Ghi chú: Các chỉ số này đều nằm trong giới hạn cho phép của tiêu chuẩn Codex về nước ép quả và sản phẩm từ quả (Codex Stan 247-2005) [15].

Sau thanh trùng và trong suốt 14 ngày bảo quản, tổng số vi sinh vật hiếu khí luôn < 1 CFU/mL, không phát hiện nấm men, nấm mốc. Không có hiện tượng phân lớp, kết tủa, đổi màu hay sinh khí trong suốt 14 ngày bảo quản. Trạng thái dịch thể, màu sắc và mùi vị ổn định, cho thấy hệ keo đã được tối ưu nhờ kết hợp đúng tỷ lệ CMC và đồng hóa. So với các sản phẩm tương đương trên thị trường (nước ép bưởi đóng chai nhập khẩu hoặc pha chế công nghiệp), mẫu nước ép bưởi Diễn trong nghiên cứu có ưu thế về hương vị tự nhiên, độ tươi, hàm lượng vitamin C cao hơn và ít sử dụng phụ gia tổng hợp. Quy trình có thể ứng

dụng trong các cơ sở chế biến quy mô vừa - nhỏ và liên kết vùng trồng bưởi theo mô hình OCOP. Sản phẩm hoàn chỉnh đáp ứng đầy đủ các yêu cầu kỹ thuật và cảm quan, an toàn thực phẩm và có khả năng thương mại hóa cao trong điều kiện sản xuất nội địa.



Hình 5. Hình ảnh sản phẩm sau khi hoàn thiện quy trình

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thiết lập quy trình tối ưu để sản xuất nước ép bưởi Diễn đóng chai gồm các bước chần NaOH 1% trong 40 giây, pha loãng tỷ lệ 1: 1, phối chế 12,5% đường và 0,35% axit citric, bổ sung 0,1% CMC, đồng hóa 10 phút và thanh trùng ở 85°C trong 6 phút. Sản phẩm đạt chất lượng cảm quan cao, ổn định trong bảo quản 14 ngày và đảm bảo an toàn vi sinh. Quy trình đảm bảo hiệu quả kỹ thuật và bảo toàn dinh dưỡng, phù hợp với điều kiện sản xuất trong nước. Để phát triển thương mại, cần nghiên cứu mở rộng quy mô, cải tiến bao bì, kéo dài thời hạn sử dụng và đánh giá tính kinh tế. Các doanh nghiệp chế biến nông sản có thể ứng dụng quy trình này nhằm giảm tổn thất sau thu hoạch và nâng cao giá trị cho sản phẩm từ bưởi Diễn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Elisa Tripoli, Maurizio La Guardia, Danila Di Majo, Marco Giammanco (2005). *Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review*. Nutrition Research Reviews, 18, 98 – 112.
2. Maria J. Esteve, Ana Frigola (2008). *The Effects of Thermal and Non-thermal Processing on Vitamin C, Carotenoids, Phenolic Compounds and*

Total Antioxidant Capacity in Orange Juice. Global Science Books, Tree and Forestry Science and Biotechnology 2 (Special Issue 1), 128 - 134

3. A. M. S. Hussein, N. A. Hegazy, M. M. Kamil and S. S. M. Ola (2017). Formulation and Evaluation of Some Healthy Natural Juice Blends. *Asian Journal of Scientific Research*, 10(3), 160 - 168.

4. Layal Dahdouh, Christelle Wisniewski, Julien Ricci, Laurent Vachoud, Manuel Dornier, Michèle Delalonde (2020). Rheological study of orange juices for a better knowledge of their suspended solids interactions at low and high concentration. *Journal of Food Engineering*, 174, 15 - 20.

5. Hệ thống thông tin thống kê Khoa học Công nghệ (2025). *Ứng dụng công nghệ bảo quản nông sản sau thu hoạch*. <https://thongke.cesti.gov.vn/an-pham-thong-ke/thong-tin-chuyen-de-khoa-hoc-cong-nghe-va-doi-moi-sang-tao/1386-ung-dung-cong-nghe-bao-quan-nong-san-sau-thu-hoach>

6. Ruihuan Lv, Qing Kong, Haijin Mou, Xiaodan Fu (2017). Effect of guar gum on stability and physical properties of orange juice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 565 - 574.

7. Ali Anwar, Aleena Tahir, Waseem Khalid, Muhammad Sajid Arshad, Muhammad Faisal Manzoor, Quratulain Babar (2024). *Optimization of thermal processing conditions to preserve bioactive components in citrus juice*. Publisher: Springer Nature, Citrus Fruits and Juices, Edition: 1, Chapter: 8, 161 - 186.

8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm.

9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa.

10. Vijaykumar T. Kore, S. Haque, Ivi Chakraborty (2014). Techniques of debittering

citrus Juices- A Review. *J Food Sci Technol*, DOI 10.1007/s13197-014-1629-7.

11. Ahmed Humayun, Chandan Kumar Gautam, Mukund Madhav, Sumeet Sourav, Chidambaram Ramalingam (2014). Effect of citric and malic acid on shelf life and sensory characteristics of orange juice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 117 - 119.

12. Keshani, S., Luqman Chuah, A., Nourouzi, M. M., Russly A.R. and Jamilah, B. (2010). Optimization of juice blend ratio for pomelo

beverage using response surface methodology. *International Food Research Journal*, 17, 733 - 742.

13. Bộ Y tế (2010). *Thông tư 35/2010/TT-BYT, ngày 02 tháng 6 năm 2010: Ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống không cồn.*

14. Samreen, S. (2025). Processing of fruit juices: Techniques, challenges, and advances. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*, 9(1), 186 - 187.

15. FAO (2005). *Codex standard 247 - 2005: General standard for fruit juices and nectars.*

STUDY ON TECHNOLOGICAL PARAMETERS FOR PRODUCING CANNED JUICE FROM DIEN POMELO (*Citrus grandis*)

Luong Hung Tien¹, Pham Thi Ha¹, Tran Thi Hang², Ho Phu Ha³

¹ Institute of Biotechnology and Food Technology,
Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry

² Thai Nguyen College of Commerce and Tourism

³ School of Chemical and life Sciences,
Hanoi University of Science and Technology

Abstract

This study presents a technological process for producing canned juice from Dien pomelo (*Citrus grandis*) with the goal of optimizing sensory quality, nutritional value, storage stability. The optimized procedure consists of blanching pomelo segments in 1% NaOH solution for 40 seconds, diluting the juice at a 1: 1 ratio, blending with 12.5% sucrose and 0.35% citric acid, adding 0.1% CMC as a stabilizer, homogenizing for 10 minutes, pasteurizing at 85°C for 6 minutes. The final product exhibited excellent sensory properties, microbiological safety, and physicochemical stability during 14 days of cold storage (3 - 5°C). This research provides a scientific foundation for the pilot- and small-scale production of Dien pomelo juice in regional citrus-growing areas.

Keywords: Debittering, Dien pomelo, fruit juice, sensory stability, thermal pasteurization.

Ngày nhận bài: 10/7/2025

Ngày chuyển phản biện: 14/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 28/7/2025

Ngày duyệt đăng: 4/8/2025

ỨNG DỤNG PROTEASE TRONG TRÍCH TINH BỘT HỘT QUẢ XOÀI (*Mangifera indica* L.)

Phạm Văn Thêm¹, Võ Khánh Hưng¹, Dương Thị Phượng Liên^{1,*}

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

*Email: dtphlien@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Hột xoài có nguồn tinh bột dồi dào nhưng là nguồn phế phẩm bỏ đi của ngành công nghệ chế biến thực phẩm. Điều này không chỉ gây lãng phí mà còn gây ra ô nhiễm môi trường. Nghiên cứu này thực hiện nhằm trích tinh bột từ hột quả xoài với nội dung khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme protease (0, 1, 2, 3 unit/mL) và thời gian xử lý enzyme (2, 3, 4 giờ) trong quá trình ngâm nhân hột đến hiệu suất thu hồi và chất lượng tinh bột hột quả xoài. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hột quả xoài được xử lý enzyme protease với tỉ lệ 2 unit/mL và thời gian xử lý ngâm trích trong 3 giờ cho hiệu suất thu hồi tinh bột $56,35 \pm 2,94\%$, hàm lượng tinh bột trong thành phẩm đạt $85,32 \pm 0,30\%$, hàm lượng protein duy trì mức thấp $3,44 \pm 0,06\%$, tinh bột có độ trắng cao (giá trị L^* $94,38 \pm 0,02$), độ hoà tan (WSS), khả năng trương nở (SP) và khả năng hấp thụ nước (WAC) của tinh bột lần lượt là $9,86 \pm 0,04\%$, $4,04 \pm 0,05$ g/g và $3,65 \pm 0,05$ g/g, khối lượng riêng biểu kiến (BD) và khối lượng riêng thực (TD) lần lượt là $0,46 \pm 0,01$ và $0,61 \pm 0,01$ g/cm³. Hình ảnh hạt tinh bột dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM) có dạng hình elip không đều, bề mặt hạt nhẵn và kích thước khác nhau với chiều rộng và chiều dài trung bình tương ứng với $6,33 \pm 2,10$ và $9,61 \pm 3,06$ μ m. Nghiên cứu mở ra triển vọng trích và tinh sạch nguồn phế phẩm từ hột quả xoài dùng để ứng dụng trong công nghiệp như: Thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm và các ứng dụng khác mang lại giá trị kinh tế cao cho nguồn nguyên liệu này, đồng thời giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường.

Từ khoá: Hiệu suất thu hồi, hàm lượng tinh bột, hột xoài, protease, trích tinh bột.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nông nghiệp là một trong những thế mạnh của Việt Nam, trong đó xoài luôn là một trong những sản phẩm chủ lực của đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nói riêng và cả nước nói chung. Theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tính đến năm 2023, Việt Nam có diện tích trồng xoài khoảng 115.000 ha và sản lượng gần 969.000 tấn/năm, trong đó ĐBSCL là vùng sản xuất xoài lớn nhất với 49.000 ha. Các tỉnh có diện tích và sản lượng xoài lớn nhất của cả nước lần lượt là: Sơn La, Đồng Tháp, An Giang, Đồng Nai. Tại tỉnh Đồng Tháp, diện tích trồng xoài khoảng 14.400 ha, sản lượng gần 137.000 tấn [1].

Xoài (*Mangifera Indica* L.) được mệnh danh là vua của các loại trái cây [2], cung cấp nhiều chất dinh dưỡng, hương thơm vị chua ngọt, đa dạng chủng loại như: Xoài Cát Chu, xoài ghép Bưởi, xoài cát Hòa Lộc, xoài Mỏ Quạ, xoài Đài Loan, xoài

Keo,... Trong 100 g xoài tươi chứa: 60 calo; 0,82 g chất đạm; 0,38 g chất béo; 1,6 g chất xơ; 14,98 g tinh bột; 13,66 g đường; 168 mg kali; 36,4 mg vitamin C; 11 mg canxi; 10 mg magie; 7,6 mg choline; 0,16 mg sắt; 0,119 mg vitamin B6; 0,028 mg thiamin... [2 - 5]. Trong quá trình tiêu thụ và chế biến xoài, một số lượng lớn các sản phẩm phụ dưới dạng vỏ và hột được bị loại bỏ như chất thải nên cần được quan tâm và giải quyết phù hợp để xử lý và tăng thêm giá trị kinh tế [6]. Hột xoài được xem là một loại chất thải công nghiệp hàng đầu trên thế giới, khoảng 123.000 tấn hạt/năm [7], dẫn đến ô nhiễm môi trường rất lớn. Song nhân hột xoài lại chứa nguồn tinh bột tương đối cao (khoảng 65%) có khả năng tận dụng trong sản xuất thực phẩm [8]. Có nhiều phương pháp được sử dụng để trích tinh bột trong nguyên liệu thực vật, bao gồm các phương pháp truyền thống như: Sử dụng nước, nhiệt, dung dịch axit hoặc kiềm.

Phương pháp trích tinh bột hỗ trợ protease thường liên quan đến việc phá vỡ ma trận protein xung quanh các hạt tinh bột, giúp quá trình tinh sạch tinh bột hiệu quả hơn về hiệu suất thu hồi tinh bột và các tính chất hoá lý của tinh bột, đồng thời còn rút ngắn thời gian trích và giảm nhu cầu sử dụng hoá chất, góp phần thân thiện với môi trường và phù hợp với định hướng sản xuất xanh.

Vì vậy, mục tiêu nghiên cứu này là xác định được các thông số thích hợp trong quá trình xử lý enzyme protease để trích và thu hồi hiệu quả tinh bột từ nhân hạt xoài nhằm hạn chế sự lãng phí nguồn nguyên liệu có sẵn, tăng giá trị kinh tế, đa dạng hoá các sản phẩm từ xoài và tránh gây ô nhiễm môi trường.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương tiện nghiên cứu

Hạt xoài Keo tươi là phế liệu từ Công ty Cổ phần Chế biến Thực phẩm Xuất khẩu miền Tây (Westfood) ngay sau quá trình sản xuất chính. Enzyme protease (Complex Protease MF101, xuất xứ Trung Quốc, Công ty ICFOOD, Việt Nam phân phối), hoạt tính 350.000 U/g, pH tối thích 6,0 - 7,0 và nhiệt độ 50 - 60°C. Các hoá chất phân tích khác như: HCl, H₂SO₄, NaOH... có xuất xứ từ Trung Quốc. Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Hạt xoài sau khi vận chuyển về đến phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ được xử lý sơ bộ và được tách lấy nhân hạt. Phần nhân được cắt lát và băm nhỏ đến kích thước khoảng 2 - 3 mm. Cân định lượng chính xác 200 g nhân hạt cho mỗi mẫu, thêm nước cất với tỷ lệ 1/2 (w/v) [9], chỉnh pH đến 6,0 và hòa tan enzyme protease với tỷ lệ lần lượt là 0, 1, 2, 3 unit/mL. Các mẫu cho vào bể điều nhiệt ngâm ở 50°C, với từng khoảng thời gian 2, 3, 4 giờ. Kết thúc quá trình ngâm mẫu hạt xoài được rửa lại và nghiền với tỷ lệ bột/nước là 1/2. Hỗn hợp được lọc qua rây kích thước 0,25 mm [10]. Phần bã sau khi rây sẽ được rửa qua nhiều lần với nước cất cho đến khi trong để thu tối đa tinh bột còn sót lại. Dịch lọc ban đầu và dịch lọc từ bã được khuấy trộn và cho vào hộp

nhựa có nắp để lắng qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Loại bỏ phần nổi phía trên sau khi lắng, tiến hành rửa tinh bột qua ba lần với nước cất để loại bỏ những tạp chất còn lại. Tinh bột thô sau khi rửa được sấy ở 60°C đến khi độ ẩm của bột còn dưới 10% [11], tinh bột khô sẽ được nghiền mịn và rây một lần nữa với lưới lọc kích thước 0,25 mm, sau đó cho vào túi zip tráng nhôm để bảo quản ổn định ở nhiệt độ phòng một ngày và phân tích các chỉ tiêu [12]. Hiệu quả quá trình tinh bột được thể hiện qua các chỉ tiêu: Hiệu suất thu hồi tinh bột (%), hàm lượng tinh bột (%), hàm lượng protein (%), màu sắc (giá trị L*), độ hòa tan (WSS, %), khả năng trương nở (SP, g/g), khả năng hấp thụ nước (WAC, g/g), khối lượng riêng biểu kiến (g/cm³) khối lượng riêng thực (g/cm) và quan sát hình ảnh dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM).

2.3. Phương pháp phân tích

Màu sắc (giá trị L*) được đo bằng máy đo màu Read Color CR20, Nhật Bản. Hàm lượng tinh bột (%) được xác theo phương pháp Lane-Eynon có sửa đổi [11]. Hàm lượng protein theo phương pháp Kjeldahl [13]. WSS và SP được xác định theo phương pháp của Takahashi và Seib (1988) [14]. WAC được xác định theo phương pháp Sosulski (1962) [15]. Khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực được xác định theo phương pháp Bala và cs (2020) có sửa đổi và bổ sung [16].

Hiệu suất thu hồi tinh bột (%) tính theo công thức:
$$\text{Hiệu suất thu hồi tinh bột (\%)} = \frac{\text{Khối lượng tinh bột trong sản phẩm}}{\text{Khối lượng tinh bột trong nguyên liệu}} \times 100.$$

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu nhận và xử lý phân tích phương sai ANOVA và kiểm tra sự khác biệt ý nghĩa giữa các nghiệm thức thông qua kiểm định LSD (Least Significant Difference) bằng phần mềm Statgraphics Centurion 19. Số liệu được tính toán, trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn bằng phần mềm Microsoft Excel 365.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình ngâm nhân hạt đến hiệu suất thu hồi, hàm lượng tinh bột, hàm lượng protein và độ trắng (L*) trong tinh bột thành phẩm

Bảng 1 cho thấy, tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hiệu suất thu hồi tinh bột ($p < 0,05$). Hiệu suất thu hồi tinh bột dao động trong khoảng 42,42 - 59,16% và đạt cao nhất (59,16%) tương ứng với mẫu sử dụng enzyme protease là 3 unit/mL với thời gian xử lý enzyme là 3 giờ và thấp nhất (47,89%) tương ứng với sử dụng tỷ lệ enzyme protease là 1 unit/mL với thời gian ngâm xử lý 2 giờ. Tuy nhiên, với cùng thời gian xử lý thì hiệu suất thu hồi tinh bột khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi tăng tỷ lệ enzyme protease 2 unit/mL lên 3 unit/mL. Bên cạnh đó, hiệu suất thu hồi tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê khi thời gian xử lý enzyme tăng từ 2 giờ lên 3 giờ, song khi tăng thời gian xử lý enzyme từ 3 giờ lên 4 giờ thì hiệu suất thu hồi khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Có thể giải thích điều này là do bản chất của quá trình trích tinh bột là sự khuyếch tán các phân tử, muốn giải phóng tinh bột thuận lợi hơn cần phải phá vỡ liên kết tinh bột-protein này. Khi thời gian tiếp xúc giữa cơ chất và enzyme càng dài, thì quá trình thủy phân càng mạnh mẽ hơn. Tuy nhiên, thời gian xử lý enzyme kéo dài giúp quá trình trích tinh bột trong nguyên liệu hiệu quả hơn nên hiệu suất thu hồi tinh bột thành phẩm càng nhiều hơn. Nhưng thời gian xử lý enzyme ngâm trích kéo dài quá lâu có thể dẫn đến sự phân huỷ các chất và làm giảm hiệu suất thu hồi tinh bột. Theo Lê Ngọc Tú và cs (2010), nồng độ cơ chất ở điều kiện thích hợp, vận tốc phản ứng tuyến tính với nồng độ enzyme. Khi nồng độ enzyme tăng đến giới hạn nhất định, vận tốc phản ứng không tăng lên nữa mà đạt ở trạng thái cân bằng. Tuy nhiên, nồng độ enzyme tăng quá mức thì vận tốc phản ứng tăng chậm lại [17]. Bên cạnh đó, tạp chất protein cũng là nguyên nhân làm chậm quá trình lắng tách các hạt tinh bột nhỏ, làm cho quá trình phân tách tinh bột bị thất thoát [9]. Theo Bùi Thị Hồng Phương và cs (2020) [18], chiết xuất tinh bột từ củ khoai lang bằng phương pháp sử dụng enzyme thì hiệu suất thu hồi tinh bột cũng tăng lên so với mẫu không xử lý enzyme. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy, hiệu suất thu hồi tinh bột hạt quả xoài cũng tăng lên khi xử lý bằng enzyme. Kết luận rằng phương pháp này mang lại hiệu quả cho quá trình trích thu hồi tinh bột. Kết quả nghiên cứu tương tự khác về tinh bột

hạt xoài Chakanan cho thấy, hiệu suất thu hồi tinh bột chiết xuất bằng nước-siêu âm chỉ đạt 28,59% [19], còn kết quả nghiên cứu của Souza và cs (2021) [20] chiết xuất tinh bột hạt xoài bằng cách rửa, nghiền và xay hạt xoài kết hợp với sodium metabisulfite cho hiệu suất thu hồi đạt 53,89%. Như vậy, hiệu suất thu hồi tinh bột (59,16%) khi xử lý enzyme protease cao hơn so với các kết quả nghiên cứu trên.

Tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng tinh bột ($p < 0,05$). Bảng 1 cho thấy, hàm lượng tinh bột trong thành phẩm dao động trong khoảng 72,82 - 85,65%. Kết quả nghiên cứu của Bangar và cs (2021) [21] cho rằng, hàm lượng tinh bột thu được khi trích tinh bột hạt xoài đạt 78,42% thấp hơn so với nghiệm thức tốt nhất của nghiên cứu này, điều này cho thấy hiệu quả của việc sử dụng enzyme protease. Trong cùng thời gian xử lý enzyme 3 giờ và 4 giờ khi tỷ lệ enzyme tăng từ 1 unit/mL lên 2 unit/mL, hàm lượng tinh bột tăng có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên khi tăng tỷ lệ enzyme 2 unit/mL lên 3 unit/mL thì hàm lượng tinh bột khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Thời gian xử lý enzyme 2 giờ khi tăng tỷ lệ 1 unit/mL lên 3 unit/mL hàm lượng tinh bột khác biệt không có ý nghĩa thống kê. So với mẫu đối chứng không sử dụng enzyme, với tỷ lệ enzyme từ 1 - 3 unit/mL ở các khoảng thời gian ngâm trích, hàm lượng tinh bột thu được khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể là do quá trình trích có sự hỗ trợ của enzyme protease giúp cải thiện hàm lượng tinh bột trong sản phẩm. Các hạt tinh bột thường liên kết chặt chẽ với mạng lưới liên kết protein qua tương tác các liên kết yếu như: Liên kết hydro, liên kết tương tác kỵ nước và liên kết tĩnh điện. Enzyme protease xúc tác thủy phân các liên kết peptide trong chuỗi polypeptide của protein. Khi enzyme protease tiếp xúc với mạng lưới protein-tinh bột sẽ nhận diện và tấn công vào vị trí các peptide dễ phân cắt tạo thành các đoạn peptide ngắn và axit amin tự do, từ đó làm mất ổn định cấu trúc bậc cao của protein, đồng làm suy yếu hoặc phá vỡ liên kết protein - tinh bột. Theo Ozturk và cs (2021) [22], mạng lưới liên kết protein là nguyên nhân chủ yếu giữ lại các hạt tinh bột. Khi nghiền nguyên liệu và

sử dụng enzyme trong quá trình ngâm làm phá hủy cấu trúc tế bào, phá vỡ liên kết tinh bột - protein giúp giải phóng tinh bột khỏi vỏ bọc của

protein làm cho quá trình khuếch tán nhanh chóng và thuận lợi hơn, do đó hàm lượng tinh bột thu được cao hơn.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình ngâm nhân hạt đến hiệu suất thu hồi, hàm lượng tinh bột, hàm lượng protein và độ trắng (L*) trong tinh bột thành phẩm

Thời gian xử lý enzyme (giờ)	Tỷ lệ protease (unit/mL)	Hiệu suất thu hồi (%)	Hàm lượng tinh bột (%)	Hàm lượng protein (%)	Độ trắng (L*)
2	0	42,42 ± 0,25 ^a	73,05 ± 0,46 ^a	5,47 ± 0,04 ^e	93,78 ± 0,07 ^c
	1	45,10 ± 0,41 ^{abc}	74,53 ± 0,35 ^{bc}	4,29 ± 0,03 ^d	93,76 ± 0,02 ^c
	2	45,69 ± 2,27 ^{bc}	75,06 ± 0,28 ^{cd}	4,25 ± 0,06 ^d	93,15 ± 0,04 ^b
	3	46,06 ± 0,15 ^{bc}	75,11 ± 0,20 ^{cd}	4,20 ± 0,09 ^{cd}	92,12 ± 0,07 ^a
3	0	43,27 ± 0,21 ^{ab}	73,86 ± 0,23 ^b	4,20 ± 0,09 ^{cd}	94,27 ± 0,04 ^d
	1	49,83 ± 0,08 ^d	77,38 ± 0,18 ^e	4,03 ± 0,09 ^b	94,42 ± 0,07 ^{efg}
	2	56,35 ± 2,94 ^{ef}	85,32 ± 0,30 ^{fg}	3,44 ± 0,06 ^a	94,38 ± 0,02 ^{ef}
	3	59,16 ± 0,21 ^f	85,65 ± 0,11 ^g	3,33 ± 0,09 ^a	94,33 ± 0,04 ^{de}
4	0	43,84 ± 1,90 ^{ab}	72,82 ± 0,75 ^a	4,29 ± 0,09 ^d	94,33 ± 0,04 ^{de}
	1	47,29 ± 2,24 ^{cd}	75,68 ± 0,42 ^d	4,11 ± 0,09 ^{bc}	94,48 ± 0,09 ^g
	2	55,29 ± 2,09 ^e	84,79 ± 0,22 ^f	3,36 ± 0,09 ^a	94,46 ± 0,06 ^{fg}
	3	57,01 ± 3,08 ^{ef}	85,29 ± 0,78 ^{fg}	3,31 ± 0,08 ^a	94,59 ± 0,09 ^h
F		9,36	165,06	31,93	214,12
P		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Ghi chú: Các giá trị được biểu thị bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn; các số mang chữ số mũ a, b, c... khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ($p < 0,05$).

Tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đến hàm lượng protein trong tinh bột thành phẩm. Bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein dao động trong khoảng từ 3,31 - 5,47%. Thời gian xử lý enzyme tăng từ 2 giờ lên 3 giờ hàm lượng protein giảm có ý nghĩa thống kê, tăng thêm thời gian xử lý enzyme 3 giờ lên 4 giờ hàm lượng protein không khác biệt. Thời gian xử lý enzyme 3, 4 giờ, hàm lượng protein giảm có ý nghĩa thống kê tương ứng từ 4,03% xuống 3,44% và từ 4,11% xuống 3,36% khi tăng tỷ lệ enzyme từ 1 unit/mL lên 2 unit/mL. Khi tăng tỷ lệ enzyme từ 2 unit/mL lên 3 unit/mL hàm lượng protein khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Sự dao động của hàm lượng protein là do quá trình xúc tác thủy phân protein thành các chuỗi peptide nhỏ hơn và cuối cùng là các axit amin bởi enzyme protease, nên khi bổ sung enzyme vào thì quá trình thủy phân protein trở nên hiệu quả hơn,

làm suy yếu các liên kết tinh bột-protein. Mặt khác, khi cơ chất thừa, nồng độ enzyme tăng thì vận tốc phản ứng tăng, nhưng khi nồng độ cơ chất và nồng độ enzyme bão hoà với nhau thì vận tốc phản ứng không tăng hoặc không thay đổi khi nồng độ enzyme [23]. Do quá trình thủy phân xúc tác enzyme trong điều kiện enzyme với cơ chất vẫn còn tiếp xúc. Thời xử lý enzyme càng dài thì quá trình thủy phân cơ chất càng diễn ra mạnh mẽ và nhiều, hàm lượng protein trong tinh bột càng giảm. Kết quả nghiên cứu của Yaowiwat và cs (2024) [24] cho thấy, hàm lượng protein đo được khi trích tinh bột xoài dao động trong khoảng 4 - 6% khi không sử dụng enzyme trong phương pháp trích. Do đó, kết quả nghiên cứu này cho thấy, quá trình sử dụng enzyme protease để giảm lượng protein mang lại hiệu quả như mong đợi giúp cho độ tinh khiết của tinh bột thành phẩm được nâng lên.

Độ trắng tinh bột hạt xoài bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme ($p < 0,05$). Độ trắng của tinh bột có khuynh hướng tăng lên khi kéo dài thời gian xử lý enzyme protease, độ trắng tinh bột cao nhất ($L^* = 94,59$) tương ứng với thời gian xử lý enzyme 4 giờ và thấp nhất ($L^* = 92,12$) tương ứng với mẫu có thời gian xử lý enzyme 2 giờ. So sánh với các nghiên cứu trước đây, độ trắng L^* của tinh bột hạt xoài cao hơn nhiều với độ trắng (66,11) tinh bột khoai tây khi chiết xuất bằng phương pháp rửa sạch, gọt vỏ, thái lát và sấy khô [25] và cao hơn độ trắng (81,09) tinh bột hạt xoài Chok-Anan (Thailand) bằng dung dịch kiềm [24]. Có thể là do khi sử dụng enzyme protease để trích giúp loại bỏ được tạp chất protein hiệu quả hơn các phương pháp trích của nghiên cứu trên. Thời gian xử lý enzyme tăng 2 giờ lên 3 giờ thì độ trắng tinh bột tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các mức tỷ lệ khảo sát, tuy nhiên, khi tăng thời gian xử lý enzyme 3 giờ lên 4 giờ thì độ trắng của tinh bột tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê với tỷ lệ enzyme 3 unit/mL và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với tỷ lệ enzyme 1 unit/mL và 2 unit/mL là do các tạp chất bị loại bỏ đã đạt đến giới hạn nên không thể cải thiện hơn độ trắng của tinh bột thành phẩm. Theo Villarreal và cs (2013) [26] tinh bột thành phẩm thu được có độ tinh khiết càng cao thì độ trắng của tinh bột thành phẩm càng cao.

3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình ngâm nhân hạt đến WSS, SP, WAC, khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực của tinh bột thành phẩm

Tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme không ảnh hưởng đến WSS của tinh bột ($p > 0,05$). Tuy nhiên, thời gian xử lý enzyme có khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đến WSS của tinh bột thành phẩm. Khi tăng thời gian từ 2 giờ lên 3 giờ WSS thu được khác biệt không có ý nghĩa thống kê và tăng 3 giờ lên 4 giờ giá trị WSS khác biệt có ý nghĩa, cho thấy enzyme protease có thể làm tăng độ hoà tan khi xử lý trong thời gian đủ dài. Bảng 2 cho thấy, WSS dao động khoảng từ 8,51 - 9,88% cao hơn so với báo cáo nghiên cứu trước đây về tinh bột xoài chiết xuất bằng phương pháp nước cất và kiềm có WSS trong khoảng 0,27 - 0,60% [27] và thấp hơn nghiên cứu về tinh bột hạt xoài khi sử dụng phương pháp siêu âm có độ hoà tan dao động 14,88 - 17,11% [28]. WSS của tinh bột cao hay thấp phụ thuộc vào phương pháp chiết xuất tinh bột, phương pháp khác nhau thì lực cắt để phá vỡ các liên kết cộng hoá trị của chuỗi hạt tinh bột khác nhau, nhằm tạo thuận lợi quá trình thẩm thấu amylose trong nước, làm tăng khả năng hoà tan tinh bột trong nước. Ngoài ra, độ hoà tan còn ảnh hưởng bởi các yếu tố nguồn gốc tinh bột, khả năng trương nở và các hợp chất có trong tinh bột [29].

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình ngâm nhân hạt đến độ hoà tan, khả năng trương nở, khả năng hấp thụ nước, khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực của tinh bột thành phẩm

Thời gian xử lý enzyme (giờ)	Tỉ lệ protease (unit/mL)	WSS (%)	SP (g/g)	WAC (g/g)	Khối lượng riêng biểu kiến (g/cm ³)	Khối lượng riêng thực (g/cm ³)
2	0	9,22 ± 0,02 ^{abcd}	4,72 ± 0,02 ^{def}	4,28 ± 0,01 ^{ab}	0,48 ± 0,01 ^{cd}	0,63 ± 0,01 ^{ab}
	1	9,33 ± 0,05 ^{abcd}	4,60 ± 0,05 ^{cd}	4,17 ± 0,05 ^{ab}	0,48 ± 0,05 ^{cd}	0,64 ± 0,01 ^{ab}
	2	9,28 ± 0,09 ^{abcd}	4,68 ± 0,04 ^{cde}	4,25 ± 0,04 ^{ab}	0,47 ± 0,04 ^{abc}	0,64 ± 0,01 ^{ab}
	3	9,26 ± 0,13 ^{abcd}	4,57 ± 0,03 ^c	4,14 ± 0,03 ^{ab}	0,46 ± 0,01 ^a	0,63 ± 0,01 ^{ab}
3	0	9,74 ± 0,20 ^{bcd}	4,17 ± 0,21 ^b	4,77 ± 1,93 ^b	0,47 ± 0,01 ^{abc}	0,63 ± 0,01 ^{ab}
	1	9,88 ± 0,06 ^d	4,02 ± 0,07 ^a	3,63 ± 0,06 ^a	0,46 ± 0,01 ^a	0,62 ± 0,01 ^{ab}
	2	9,86 ± 0,04 ^{cd}	4,04 ± 0,05 ^{ab}	3,65 ± 0,05 ^a	0,46 ± 0,01 ^{ab}	0,61 ± 0,01 ^a
	3	9,87 ± 0,03 ^d	4,03 ± 0,03 ^a	3,64 ± 0,02 ^a	0,47 ± 0,01 ^{abc}	0,64 ± 0,03 ^b

4	0	8,51 ± 1,61 ^a	4,81 ± 0,10 ^{ef}	4,37 ± 0,09 ^{ab}	0,48 ± 0,02 ^{bc}	0,64 ± 0,01 ^{ab}
	1	8,88 ± 0,09 ^{ab}	5,07 ± 0,10 ^g	4,63 ± 0,09 ^b	0,50 ± 0,01 ^d	0,67 ± 0,02 ^c
	2	8,89 ± 0,03 ^{abc}	5,06 ± 0,04 ^g	4,62 ± 0,03 ^b	0,52 ± 0,02 ^e	0,63 ± 0,01 ^{ab}
	3	8,86 ± 1,15 ^{ab}	4,85 ± 0,08 ^f	4,41 ± 0,08 ^{ab}	0,54 ± 0,01 ^e	0,68 ± 0,01 ^c
F		0,06	4,72	1,17	9,04	2,65
P		0,9991	0,0026	0,3547	0,0000	0,0410

Ghi chú: Các giá trị được biểu thị bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn; các số mang chữ số mũ a, b, c... khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ($p < 0,05$).

SP của tinh bột dao động trong khoảng 4,02 - 5,07 g/g và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Giá trị SP cao nhất (5,07 g/g) tương ứng với mẫu ngâm trong thời gian 4 giờ với tỷ lệ enzyme 1 unit/mL và thấp nhất (4,02 g/g) khi nguyên liệu được xử lý với thời gian ngâm 3 giờ và tỷ lệ enzyme sử dụng 1 unit/mL. Thời gian xử lý enzyme tăng từ 2 - 4 giờ, SP khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong cùng thời gian ngâm 2 giờ và 3 giờ khi tăng tỷ lệ enzyme từ 1 - 3 unit/mL, SP khác biệt không có ý nghĩa. Thời gian ngâm 4 giờ khi tăng tỷ lệ enzyme sử dụng từ 1 - 2 unit/mL, SP không có ý nghĩa thống kê, khi tăng tỷ lệ enzyme 2 unit/mL lên 3 unit/mL, SP khác biệt có ý nghĩa. Kết quả trên cho thấy, thời gian xử lý enzyme là yếu tố ảnh hưởng mạnh hơn tỷ lệ enzyme đến SP, tuy nhiên thời gian xử lý enzyme đủ dài, việc tăng tỷ lệ enzyme tiếp tục có tác động ảnh hưởng rõ rệt đến SP. SP của tinh bột có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như: Phương pháp chiết xuất, nhiệt độ, kích thước, sự khác biệt về protein, cấu trúc hạt tinh bột, tỉ lệ amylose/amylopectin, mức độ liên kết cộng hoá trị giữa các chuỗi amylose và amylopectin với các phân tử nước và trọng lượng phân tử của các hạt tinh bột [28]. Nghiệm thức tốt nhất của nghiên cứu này cũng cho thấy SP của tinh bột hạt xoài có sự tương đồng đối với SP của tinh bột hạt mít 4,77 g/g [30].

Tỷ lệ enzyme protease và thời gian xử lý enzyme trong quá trình ngâm không ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) đến WAC của tinh bột hạt xoài. WAC dao động trong khoảng từ 3,63 - 4,63 g/g. WAC cao nhất (4,63 g/g) đối với nghiệm thức có tỷ lệ enzyme protease là 1 unit/mL với thời gian xử lý enzyme 4 giờ và thấp nhất (3,63 g/g) với mẫu 1 unit/mL với thời gian xử lý enzyme 3 giờ. So với mẫu đối chứng, thời gian xử lý 2 giờ và 4 giờ khi tăng tỷ lệ enzyme 1 - 3 unit/mL có WAC khác

biệt không có ý nghĩa thống kê và thời gian xử lý enzyme 3 giờ khi tỷ lệ enzyme tăng từ 1 - 3 unit/mL, WAC khác biệt có ý nghĩa thống kê. Mặc dù enzyme protease không ảnh hưởng đến WSS của tinh bột, nhưng sự kết hợp giữa thời gian xử lý và tỷ lệ enzyme protease tại thời gian xử lý 3 giờ có thể làm thay đổi WSS của tinh bột, có thể là do liên quan đến mức độ phân giải protein trên bề mặt các hạt tinh bột ở thời gian enzyme có hoạt tính tối ưu trong điều kiện thích hợp. Bảng 2 cho thấy, nghiệm thức tốt nhất của nghiên cứu này có WAC cao hơn so với nghiên cứu trước đây về tinh bột khoai tây Hausa có WAC 2,42 g/g được chiết xuất bằng phương pháp rửa sạch, gọt vỏ, thái lát và sấy khô [25] và tinh bột hạt xoài có WAC 2,0 g/g [31]. WAC phụ thuộc vào các yếu tố như: Hàm lượng protein, chất xơ trong tinh bột, nguồn gốc của tinh bột, cấu trúc của hạt tinh bột, hàm lượng amylose và amylopectin, quá trình trích [32].

Độ hoà tan, khả năng trương nở và khả năng hấp thụ nước là các chỉ tiêu chức năng quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến tính khả dụng trong công nghiệp dược phẩm và thực phẩm. Trong dược phẩm, tinh bột có độ hoà tan, khả năng hấp thụ nước và trương nở cao giúp viên nén rã nhanh, hỗ trợ giải phóng dược liệu hiệu quả hơn và còn giúp cải thiện sự phân tán hoạt chất trong môi trường tiêu hoá, hỗ trợ tăng sinh khả dụng của thuốc [33]. Trong thực phẩm, các đặc tính này góp phần tạo nên độ sánh, khả năng giữ ẩm và cấu trúc gel trong sản phẩm, đồng thời giúp cải thiện chất dinh dưỡng và cảm quan trong thực phẩm [34].

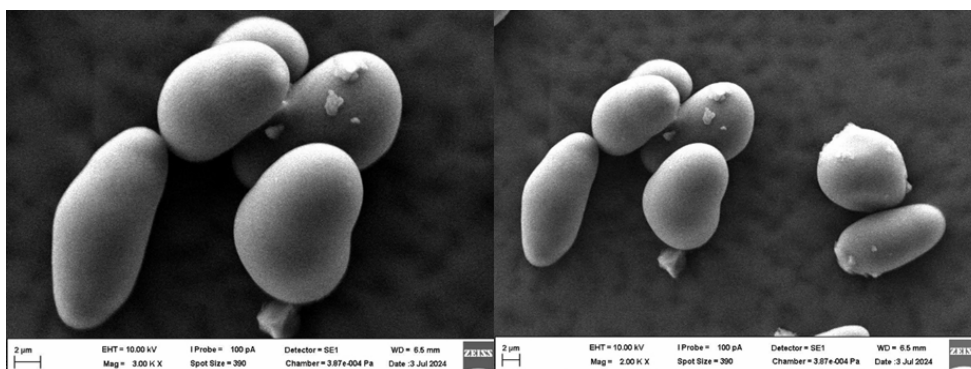
Theo kết quả thu nhận được (Bảng 2), khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực của tinh bột hạt xoài dao động trong khoảng (0,46 - 0,54 g/cm³) và khối lượng riêng thực (0,61 - 0,68 g/cm³). Với thời gian xử lý enzyme 2 giờ, sử dụng tỷ lệ enzyme 1 - 2 unit/mL cho khối lượng riêng

biểu kiến khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng, khi tăng tỷ lệ enzyme lên 3 unit/ml khối lượng riêng biểu kiến có ý nghĩa thống kê. Thời gian ngâm trích 3 giờ, sử dụng tỷ lệ enzyme 1 - 3 unit/mL có khối lượng riêng biểu kiến khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng và có ý nghĩa thống kê khi tăng thời gian lên 4 giờ ở các mức tỷ lệ enzyme khảo sát. Tỷ lệ enzyme protease 1 - 3 unit/mL, trong cùng thời gian ngâm trích (2, 3 giờ) khối lượng riêng thực của tinh bột khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Với tỷ lệ enzyme 1 unit/mL và 3 unit/mL, thời gian 4 giờ, khối lượng riêng thực khác biệt không có ý nghĩa và có ý nghĩa thống kê với tỷ lệ enzyme tăng từ 1 - 2 unit/mL và 2 - 3 unit/mL. Do đó, việc tăng thời gian xử lý và tỷ lệ enzyme giúp phân giải protein trong tinh bột mạnh hơn, làm giảm độ rỗng giữa các hạt tinh bột, từ đó làm tăng khối lượng riêng biểu kiến và đồng thời cấu trúc tinh bột được nén chặt dẫn đến khối lượng riêng thực tăng lên. Qua đó có thể giải thích rằng, sự dao động của khối lượng riêng biểu kiến

và khối lượng riêng thực của tinh bột là do sự phân bố kích thước của hạt, hình thái và độ ẩm hạt [35]. Ngoài ra, hàm lượng tinh bột tăng hay giảm cũng là nguyên nhân dẫn đến sự thay đổi khối lượng riêng của tinh bột [36].

Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, khối lượng riêng biểu kiến ($0,46 - 0,54 \text{ g/cm}^3$) và khối lượng riêng thực ($0,61 - 0,68 \text{ g/cm}^3$) cao hơn nhiều so với nghiên cứu trước đây có khối lượng riêng biểu kiến ($0,29 - 0,31 \text{ g/cm}^3$) và khối lượng riêng thực ($0,43 - 0,46 \text{ g/cm}^3$) [37]. Nguyên nhân là do khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng thực phụ thuộc vào cách xử lý nguyên liệu, thao tác thực hiện trong quá trình đo, bên cạnh đó sự thay đổi còn phụ thuộc vào kích thước, hình thái, tính chất bề mặt của hạt tinh bột và khối lượng riêng của hạt [36]. Khối lượng riêng biểu kiến và khối lượng riêng thực còn dùng để tính toán khối lượng, công suất và xác định loại vật liệu của bao bì trong quá trình đóng gói.

3.3. Quan sát hình ảnh dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM)



Hình 1. Hạt tinh bột dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Hình 1 cho thấy, hình ảnh hạt tinh bột dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM) Zeiss với thông số kỹ thuật: Điện áp gia tốc (EHT) 10,00 kV, dòng đầu dò (I Probe) 100 pA, khoảng cách làm việc (WD) 6,5 mm, áp suất buồng (Chamber) $3,87 \times 10^{-4}$ Pa và hình ảnh được chụp ở độ phóng đại 3.000 X (Mag = 3,00 KX) và 2.000 X (Mag = 2,00 KX), với thang đo 2 μm , hạt tinh bột có dạng hình elip không đều, bề mặt hạt nhẵn và kích thước khác nhau với chiều rộng và chiều dài trung bình tương ứng với $6,33 \pm 2,10$ và $9,61 \pm 3,06 \mu\text{m}$ được đo trên 12 hạt tinh bột. Kết quả nghiên cứu này, kích thước hạt tinh bột với chiều rộng và chiều dài trung bình nhỏ hơn so với nghiên cứu của Ferreira

và cs (2019) [37] được chiết xuất bằng dung dịch sodium bisulfite có kích thước hạt tinh bột với chiều rộng và chiều dài trung bình tương ứng là $8,0 \pm 1,75$ và $13,0 \pm 2,9 \mu\text{m}$ và có hình thái tương tự. Nguyên nhân là do yếu tố di truyền, điều kiện sinh trưởng, địa lý và phương pháp trích. Với sự thay đổi về hình dạng và kích thước hạt tinh bột có thể giúp ích cho việc phân tích và chế biến thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm [38]. Ngoài ra, kích thước và hình dạng của các hạt tinh bột còn ảnh hưởng đến các tính chất chức năng như khả năng trương nở, khả năng hấp thụ nước, khối lượng riêng và khả năng tiêu hoá của tinh bột [39]. Kích thước hạt tinh bột càng nhỏ thì có ích trong công nghiệp

thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm và các ứng dụng khác.

4. KẾT LUẬN

Enzyme protease có tác động hiệu quả đến quá trình trích tinh bột hạt xoài. Các thông số kỹ thuật thích hợp để ứng dụng enzyme protease được xác định từ kết quả nghiên cứu là thời gian ngâm trích 3 giờ với tỷ lệ enzyme sử dụng 2 unit/mL đạt hiệu quả tốt hơn các điều kiện còn lại. Kết quả nghiên cứu mở ra triển vọng trích và tinh sạch nguồn phế phẩm từ hạt quả xoài dùng để ứng dụng trong công nghiệp như thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm và các ứng dụng khác mang lại giá trị kinh tế cao cho nguồn nguyên liệu này, đồng thời giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2023). *Nâng cao giá trị và phát triển bền vững ngành hàng xoài* - <https://thuvien.mard.gov.vn/tin-tuc/tin-hoat-dong/nang-cao-gia-tri-va-phat-trien-ben-vung-nganh-hang-xoai-14740/>. Truy cập ngày 18/8/2024.
2. Tharanathan R., Yashoda H. & Prabha T. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.), "The king of fruits" - An overview - *Food reviews international*, 22(2), 95 - 123.
3. Dar M. S., Oak P., Chidley H., Deshpande A., Giri A. & Gupta V. (2016). Nutrient and flavor content of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars: An appurtenance to the list of staple foods. *In Nutritional composition of fruit cultivars*, 445 - 467. DOI:10.1016/B978-0-12-408117-8.00019-2
4. Burton-Freeman B. M., Sandhu A. K. & Edirisinghe I. (2017). Mangos and their bioactive components: Adding variety to the fruit plate for health. *Food & function*, 8(9), 3010 - 3032.
5. Maldonado-Celis M. E., Yahia E. M., Bedoya R., Landázuri P., Loango N., Aguillón J., Restrepo B. & Guerrero Ospina J. C. (2019). Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: Nutritional and phytochemical compounds. *Frontiers in plant science*, 10, 1 - 21.
6. Choudhary P., Devi T. B., Tushir S., Kasana R. C., Popatrao D. S. & K. N. (2023). Mango seed kernel: A bountiful source of nutritional and bioactive compounds. *Food and Bioprocess Technology*, 16(2), 289 - 312.
7. Reddy K. S., Khan M. Y., Archana K., Reddy M. G. & Hameeda B. (2016). Utilization of mango kernel oil for the rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* DR1 towards its application as biocontrol agent. *Bioresource Technology*, (221), 291 - 299.
8. Sonthalia M. & Sikdar D. (2015). Production of starch from mango (*Mangifera Indica* L.) seed kernel and its characterization. *International journal of technical research and applications*, 3(3), 346 - 349.
9. Puchongkavarin H., Varavinit S. & Bergthaller W. (2005). Comparative study of pilot scale rice starch production by an alkaline and an enzymatic process. *Starch- Stärke*, 57(3 - 4), 134 - 144.
10. Lê Văn Việt Mẫn, Lại Quốc Đạt, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Minh Nguyệt, Trần Thị Thu Trà (2011). *Công nghệ chế biến thực phẩm*. Nxb Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
11. Noor F., Rahman M. J., Mahomud M. S., Akter M. S., Talukder M. A. I. & Ahmed M. (2014). Physicochemical properties of flour and extraction of starch from jackfruit seed. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 347 - 354.
12. Tesfaye T. & Sithole B. B. (2020). Valorisation of mango seeds via extraction of starch: Using response surface methodology to optimise the extraction process. *In Opportunities for Biomass and Organic Waste Valorisation*: 158 - 178.
13. Jan K., Ahmad M., Rehman S., Gani A. & Khaqan K. (2019). Effect of roasting on physicochemical and antioxidant properties of kalonji (*Nigella sativa*) seed flour. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1364 - 1372.
14. Takahashi S. & Seib P. (1988). Paste and gel properties of prime corn and wheat starches with and without native lipids. *Cereal Chem*, 65(6), 474 - 483.
15. Sosulski F. (1962). The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats. *Cereal Chemistry*, 39, 344 - 350.

16. Bala M., Handa S. & Singh R. (2020). Physicochemical, functional and rheological properties of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) flour as influenced by particle size. *Heliyon*, 6(11), 1 - 10.
17. Lê Ngọc Tú, La Văn Chữ, Đặng Thị Thu, Nguyễn Thị Thịnh, Bùi Đức Hợi, Lê Doãn Diên (2010). *Giáo trình Hóa sinh công nghiệp*. Nxb Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
18. Bùi Thị Hồng Phương, Nguyễn Mạnh Đạt, Đỗ Thị Thủy Lê, Đỗ Thị Thanh Huyền, Nguyễn Thị Hồng Linh (2020). Cải thiện khả năng chiết xuất tinh bột từ củ khoai lang bằng enzyme thương mại. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 16(6), 106 - 114.
19. Saleh N., Nordin R., Ahmad A. & Fazial F. (2023). Physicochemical characterization of starch from mango seed kernel extracted using different methods, *In AIP Conference Proceedings*, Perlis, Malaysia 2703(1), e080006.
20. Souza J. C. A. d., Macena J. F. F., Andrade I. H. P., Camilloto G. P. & Cruz R. S. (2021). Functional characterization of mango seed starch (*Mangifera indica* L.). *Research, Society and Development*, 10(3), e30310310118.
21. Bangar S. P., Kumar M. & Whiteside W. S. (2021). Mango seed starch: A sustainable and eco-friendly alternative to increasing industrial requirements. *International journal of biological macromolecules*, 183, 1807 - 1817.
22. Ozturk O. K., Kaasgaard S. G., Palmén L. G., Vidal Jr B. & Hamaker B. R. (2021). Protein matrix retains most starch granules within corn fiber from corn wet-milling process. *Industrial Crops and Products*. 165, 113429.
23. Nguyễn Nhật Minh Phương, Chế Văn Hoàng, Lý Nguyễn Bình (2011). Tác động enzyme pectinase đến khả năng trích ly dịch quả và các điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau thời gian lên men chín. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 20a, 127 - 136.
24. Yaowiwat N., Poomanee W., Leelapornpisid P. & Sripatanakul W. (2024). Potential use of Thai mango (*Mangifera indica* Linn. Cultivar Chok-Anan) seed porous starch for retention of aroma compounds from coffee extract. *International journal of biological macromolecules* 265, 131033.
25. Akhila P. P., Sunooj K. V., Aaliya B., Navaf M., Sudheesh C., Yadav D. N., Khan M. A., Mir S. A. & George J. (2022). Morphological, physicochemical, functional, pasting, thermal properties and digestibility of hausa potato (*Plectranthus rotundifolius*) flour and starch. *Applied Food Research*, 2(2), 100193.
26. Villarreal M. E., Ribotta P. D., & Iturriaga L. B. (2013). Comparing methods for extracting amaranthus starch and the properties of the isolated starches. *LWT-Food Science and Technology*, 51(2), 441 - 447.
27. Akhter M. J., Sarkar S., Rayhanujjaman M., Kabir M. S. & Hosain M. M. (2024). Characterization of mango seed kernel starch: Extraction and Analysis. *Food Chemistry Advances*, 5: 100806.
28. Miele-Gómez L., Quintana S. E., & García-Zapateiro L. A. (2023). Ultrasound-assisted extraction of mango (*Mangifera indica*) kernel starch: Chemical, techno-functional, and pasting properties. *Gels*, 9(2), 1 - 15.
29. Kumoro A. C., Retnowati D. S., Budiati C. S., Manurung T. & Siswanto H. (2012). Water solubility, swelling and gelatinization properties of raw and ginger oil modified gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) flour. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, 4(17), 2854 - 2860.
30. Ocloo F., Bansa D., Boatın R., Adom T. & Agbemavor W. (2010). Physico-chemical, functional and pasting characteristics of flour produced from Jackfruits (*Artocarpus heterophyllus*) seeds. *Agriculture and biology journal of North America*, 1(5), 903 - 908.
31. Okpala L. & Gibson-Umeh G. (2013). Physicochemical properties of mango seed flour. *Nigerian Food Journal*, 31(1), 23 - 27.
32. Singh N., Singh J., Kaur L., Sodhi N. S. & Gill B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food chemistry*, 81(2), 219 - 231.
33. Desai P. M., Liew C. V. & Heng P. W. S. (2016). Review of disintegrants and the disintegration phenomena. *Journal of pharmaceutical sciences*, 105(9), 2545 - 2555.

34. Alcázar-Alay S. C. & Meireles M. A. A. (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Science and Technology*, 35, 215 - 236.
35. Machuka J. S., Okeola O. G., Chrispeels M. J. & Jackai L. E. (2000). The African yam bean seed lectin affects the development of the cowpea weevil but does not affect the development of larvae of the legume pod borer. *Phytochemistry*, 53(6), 667 - 674.
36. Iwe M., Onyeukwu U. & Agiriga A. (2016). Proximate, functional and pasting properties of FARO 44 rice, African yam bean and brown cowpea seeds composite flour. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1142409.
37. Ferreira S., Araujo T., Souza N., Rodrigues L., Lisboa H. M., Pasquali M., Trindade G. & Rocha A. P. (2019). Physicochemical, morphological and antioxidant properties of spray-dried mango kernel starch. *Journal of Agriculture and Food Research*, 1, 100012.
38. Leonel M., Del Bem M. S., Dos Santos T. P. & Franco C. M. L. (2021). Preparation and properties of phosphate starches from tuberous roots. *International journal of biological macromolecules*, 183, 898 - 907.
39. Navaf M., Sunooj K. V., Aaliya B., Sudheesh C. & George J. (2020). Physicochemical, functional, morphological, thermal properties and digestibility of Talipot palm (*Corypha umbraculifera* L.) flour and starch grown in Malabar region of South India. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 1601 - 1613.

APPLICATION OF PROTEASE IN MANGO SEED (*Mangifera indica* L.) STARCH EXTRACTION

Pham Van Them¹, Vo Khanh Hung¹, Duong Thi Phuong Lien¹

¹*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

Abstract

Mango seeds are a rich source of starch but are a waste product of the food processing industry. This not only causes waste but also contributes to environmental pollution. This study was conducted to extract starch from mango seeds with the aim of investigating the effects of protease enzyme ratio (0, 1, 2 and 3 unit/mL) and enzyme treatment time (2, 3 and 4 hours) during the seed soaking process on the recovery efficiency and quality of mango seed starch. The research results showed that mango seeds treated with protease enzyme at a ratio of 3 unit/mL and extraction treatment time of 3 hours gave a starch recovery efficiency $56,35 \pm 2,94\%$, starch content in the finished product reached $85,32 \pm 0,30\%$, low protein content $3,44 \pm 0,06\%$, high whiteness of starch (L^* value $94,38 \pm 0,02$), water soluble solids (WSS), swelling power (SP), water absorption capacity (WAC) of starch were $9,86 \pm 0,04\%$, $4,04 \pm 0,05$ g/g, $3,65 \pm 0,05$ g/g, respectively, bulk density (BD) and tapped density (TD) were $0,46 \pm 0,01$ and $0,61 \pm 0,01$ g/cm³, respectively. Scanning electron microscopy (SEM) images of starch granules have irregular elliptical shapes, smooth granule surfaces, and different sizes, with average width and length corresponding to $6,33 \pm 2,10$ and $9,61 \pm 3,06$ μ m. The study opens prospects for extracting and purifying waste from mango seeds for industrial applications such as food, cosmetics, pharmaceuticals, and other applications that bring high economic value to this raw material while solving the problem of environmental pollution.

Keywords: Recovery efficiency, starch content, mango seeds, protease, starch extraction.

Ngày nhận bài: 20/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 16/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 21/7/2025

Ngày duyệt đăng: 5/8/2025

ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ THAY THẾ MỘT PHẦN MUỐI NaCl BẰNG KCl ĐẾN CÁC TÍNH CHẤT HOÁ LÝ CỦA CÁ LÓC FILLET

Nguyễn Quỳnh Như¹, Nguyễn Phụng Tiên¹,

Nguyễn Văn Mười², Trần Hồng Quân² *

¹ Khoa Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

² Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

* Email: thquan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Việc thay thế một phần muối NaCl bằng KCl ở các tỷ lệ khác nhau (100: 0%; 70: 30%; 50: 50%; 30: 70%; 10: 90%; 0: 100%) đến các đặc tính hóa lý như: Độ ẩm, pH, hàm lượng Na, K, chỉ số phân giải protein (PI), hàm lượng carbonyl, nhóm sulhydryl, hiệu suất và tổn thất khi nấu của cá lóc fillet được tiến hành đánh giá. Kết quả cho thấy, tỷ lệ NaCl: KCl 50: 50% là phù hợp nhất, giúp duy trì độ ẩm, pH, ổn định quá trình oxy hóa protein và phân giải protein, đồng thời không ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất và tổn thất khi nấu so với mẫu đối chứng. Đặc biệt, tỷ lệ này giúp giảm đáng kể hàm lượng natri và tăng kali. Nghiên cứu này góp phần cải thiện sức khỏe người tiêu dùng thông qua sự giảm hấp thu Na trong sản phẩm cá lóc fillet muối.

Từ khóa: Cá lóc fillet, muối NaCl, muối KCl, tính chất hóa lý.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá lóc (*Channa striata*) là một trong những loài cá đặc trưng ở vùng đồng bằng sông Cửu Long, dễ nuôi, có chất lượng thịt ngon và có giá trị dinh dưỡng cao. Trong 100 g thịt cá lóc chứa 78 g nước; 97 kcal; 18,2 g protein; 2,7 g chất béo; 1,1 g tro và một số vitamin [1]. Việc ướp muối và sấy khô là các phương pháp bảo quản thường được sử dụng ở hầu hết các quốc gia đang phát triển. Khô cá lóc có vị ngon đặc trưng và từ lâu rất được người dân ưa chuộng, được sản xuất đại trà ở nhiều nơi, đặc biệt là vùng các tỉnh: An Giang và Cà Mau. Nồng độ dung dịch muối NaCl dùng để ngâm và ướp cá khá cao (12%) [2]. Việc tiêu thụ muối NaCl cao có thể liên quan đến nhiều vấn đề về sức khỏe, bao gồm tăng huyết áp và bệnh tim mạch [3]. Năm 2016, Tổ chức Y tế thế giới (WHO) ước tính 2,5 triệu ca tử vong có thể được ngăn chặn mỗi năm nếu mức tiêu thụ natri toàn cầu giảm xuống mức khuyến nghị [4]. Theo khuyến nghị của WHO năm 2012, lượng kali hấp thụ hàng ngày nên lớn hơn 3,5 g. Lượng kali hấp thụ cao hơn có thể làm giảm mức độ liên quan giữa lượng natri dư thừa được hấp thụ đến các loại bệnh có liên quan [5]. Do đó, biện pháp giảm tiêu thụ muối hay giảm

lượng natri ăn vào cần được thực hiện cấp bách, một trong những nghiên cứu hiện nay là sử dụng thay thế một phần muối NaCl bằng KCl. Muối KCl được sử dụng phổ biến để thay thế cho muối NaCl trong các quá trình liên quan đến chế biến thực phẩm. Sự thay thế một phần KCl bằng NaCl giúp giảm lượng natri nạp vào cơ thể, cải thiện vấn đề sức khỏe đối với người cao huyết áp hoặc bệnh tim mạch [5]. Jing và cs (2023) [6] đã nghiên cứu ảnh hưởng của việc thay thế một phần NaCl bằng KCl đến các tính chất protein và thuộc tính chất lượng của cá rô phi fillet muối. Kết quả này cho thấy, việc thay thế KCl ở mức 50% đã góp phần duy trì các đặc tính chất lượng mong muốn của sản phẩm. Tuy nhiên, hiện vẫn còn thiếu các nghiên cứu đánh giá đầy đủ tác động của việc thay thế NaCl bằng KCl đến các đặc tính hóa lý của cá lóc fillet. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định tỷ lệ thay thế KCl phù hợp trong quá trình ướp muối cá lóc fillet, thông qua việc đánh giá ảnh hưởng của các tỷ lệ NaCl: KCl khác nhau đến các chỉ tiêu hóa lý như: Độ ẩm, pH, hàm lượng natri và kali, chỉ số phân giải protein, chỉ thị sự oxy hóa protein (carbonyl và nhóm sulhydryl), hiệu suất và tổn thất khi nấu. Từ đó, nghiên cứu hướng đến đề xuất

giải pháp sản xuất sản phẩm khô cá lóc có lợi hơn cho sức khỏe người tiêu dùng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến các tính chất hoá lý của protein cá lóc fillet

Cá lóc sống được mua tại chợ phường 8, thành phố Vinh Long, tỉnh Vĩnh Long. Sau khi giữ ổn định khoảng 1 giờ, cá được làm ngất bằng nước đá. Sau đó, cá được tiến hành loại bỏ đầu, đánh vảy, bỏ mang và nội tạng, fillet sau đó được rửa sạch và để ráo. Fillet cá lóc sau đó được ngâm trong dung dịch muối NaCl: KCl ở sáu tỷ lệ khác nhau: A1 (100: 0%), A2 (70: 30%), A3 (50: 50%), A4 (30: 70%), A5 (10: 90%) và A6 (0: 100%), với mục tiêu khảo sát toàn diện sự thay đổi khi thay thế từng mức NaCl bằng KCl. Các tỷ lệ này được lựa chọn dựa trên nghiên cứu trước đó của Jing và cs (2023) [6], cho thấy mức thay thế 50% KCl giữ được chất lượng

cảm quan mong muốn, đồng thời nhằm đánh giá xu hướng biến đổi các chỉ tiêu hóa lý khi tăng dần hàm lượng KCl. Tỷ lệ này cũng gợi ý tiềm năng về mặt dinh dưỡng khi cân bằng giữa việc giảm natri và tăng kali theo khuyến cáo của WHO (2016) [4].

Dung dịch muối được pha sao cho nồng độ muối cuối cùng đạt 12%, thời gian ngâm là 3 giờ, với tỷ lệ cá: dung dịch muối là 1: 2 (w/v), nhiệt độ ngâm duy trì ở 4°C. Sau khi ngâm, fillet được để ráo và tiến hành phân tích các chỉ tiêu hóa lý: Độ ẩm (%), pH, hàm lượng natri và kali (g/100 g cân bản ướt sau ngâm), chỉ số phân giải protein (PI, %), hàm lượng carbonyl (nmol/mg protein), nhóm sulfhydryl (μmol/g protein), hiệu suất (%) và tổn thất khi nấu (%).

2.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa lý được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa lý

Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích
Độ ẩm (%)	Xác định bằng phương pháp AOAC (1999) [7]
pH	Sử dụng máy đo pH (InoLab pH 7110, Đức)
Hiệu suất (%)	Xác định bằng phương pháp của Jing và cs (2023) [6]
Tổn thất khi nấu (%)	Xác định bằng phương pháp của Song và cs (2020) [8]
Chỉ số phân giải protein (PI) (%)	Xác định bằng phương pháp của Wu và cs (2014) [9]
Hàm lượng carbonyl (nmol/mg protein)	Xác định bằng phương pháp của Chen và cs (2021) [10]
Hàm lượng nhóm sulfhydryl (μmol/g protein)	Xác định bằng phương pháp của Zheng và cs (2019) [11]
Hàm lượng natri, kali (mg/100 g)	Xác định bằng phương pháp AOAC (1999) [7]

Phương pháp xử lý số liệu: Thí nghiệm được tiến hành 3 lần lặp lại được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (STD). Sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và phép thử LSD để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của các số liệu ở mức ý nghĩa 95% bằng phần mềm GraphPad Prim 9.5.0 (GraphPad Software, Boston, Mỹ).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự thay đổi độ ẩm và pH của cá lóc fillet ở các tỷ lệ muối NaCl: KCl khác nhau

Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến độ ẩm và pH của cá lóc fillet được thể hiện ở bảng 2. Kết quả cho thấy, cá lóc fillet trước khi ngâm muối có hàm lượng ẩm khá

cao ($79,13 \pm 0,40\%$). Sau khi ngâm muối giá trị này giảm một cách đáng kể ($p < 0,05$), sự giảm hàm lượng ẩm nguyên liệu trong quá trình ngâm muối là do hiện tượng tách nước, thẩm thấu. Muối thấm vào cơ cá thông qua cơ chế thẩm phân trong khi nước khuếch tán ra khỏi cơ bằng áp suất thẩm thấu. Tốc độ hấp thụ muối và giải phóng nước phụ thuộc vào sự khác biệt nồng độ muối trong cơ cá và trong dung dịch muối. Nồng độ muối sử dụng càng cao thì lượng ẩm thoát ra khỏi cơ thịt càng cao [12]. Tuy nhiên, khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl, độ ẩm có khuynh hướng tăng dần ($p < 0,05$). Cá lóc fillet ngâm trong 100% dung dịch NaCl có hàm lượng ẩm là $74,70 \pm 0,60\%$, giá trị này

không có sự khác biệt ý nghĩa so với hàm lượng ẩm của fillet cá lóc khi ngâm trong dung dịch muối NaCl: KCl ở tỷ lệ 70: 30% và 50: 50% ($p > 0,05$). Trong khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl ở mức độ 70 - 100%, độ ẩm tăng dần và dao động trong khoảng 76%. Theo Jing và cs (2023) [6], kết quả này là do khả năng liên kết của cation với protein: $Na^+ > K^+$ [13]. Việc bổ sung K^+ thúc đẩy quá trình thủy phân oxy hóa protein, gây ra sự mở

rộng của mạng lưới sợi cơ và hòa tan các protein cơ, cuối cùng tạo điều kiện thuận lợi cho việc hấp thu độ ẩm trong quá trình ngâm muối [6]. Kết quả tương đồng đối với thịt lợn muối, nghiên cứu cho rằng, hàm lượng nước tăng từ 72,48 - 73,90% khi tăng tỷ lệ thay thế KCl [13]. Do đó, việc thay thế một phần muối NaCl bằng KCl giúp hạn chế sự mất ẩm và tổn thất khối lượng trong quá trình ngâm muối.

Bảng 2. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến độ ẩm và pH của cá lóc fillet

Tỷ lệ NaCl: KCl	Độ ẩm (%)	pH	Hàm lượng natri (g/100 g)	Hàm lượng kali (g/100 g)
Cá lóc fillet trước khi ngâm muối	79,13 ^c ± 0,40*	6,78 ^c ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00	0,31 ^a ± 0,00
100: 0%	74,70 ^a ± 0,60	6,58 ^a ± 0,03	1,22 ^f ± 0,02	0,32 ^a ± 0,01
70: 30%	73,97 ^a ± 0,12	6,61 ^a ± 0,01	0,84 ^c ± 0,02	0,84 ^b ± 0,02
50: 50%	75,17 ^a ± 0,06	6,72 ^b ± 0,02	0,57 ^d ± 0,01	1,09 ^c ± 0,04
30: 70%	76,43 ^b ± 0,38	6,75 ^{bc} ± 0,01	0,34 ^c ± 0,01	1,36 ^d ± 0,05
10: 90%	76,30 ^b ± 0,10	6,79 ^c ± 0,01	0,15 ^b ± 0,01	1,78 ^e ± 0,03
0: 100%	76,33 ^b ± 0,35	6,90 ^d ± 0,04	0,04 ^a ± 0,01	2,03 ^f ± 0,07

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức 5% với kiểm định LSD. Các giá trị thể hiện trung bình 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn.

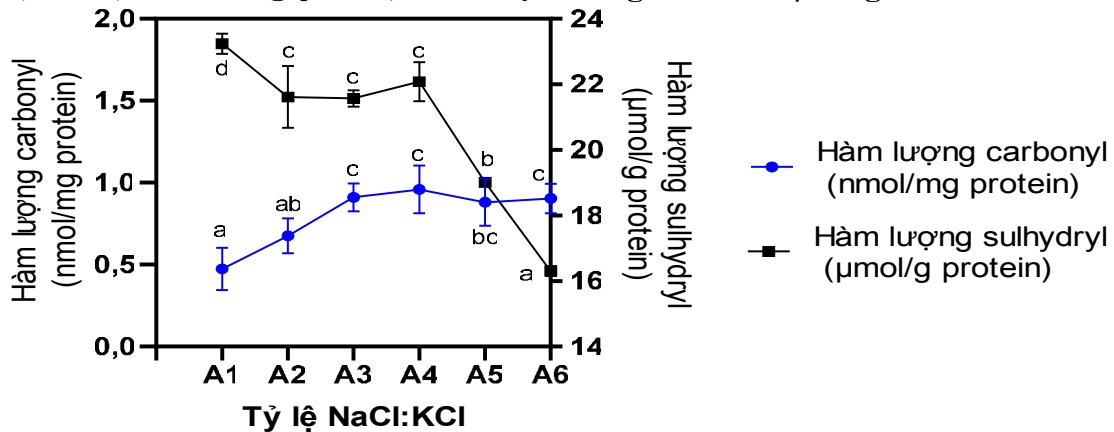
Kết quả bảng 2 cho thấy, pH của cá lóc fillet sau khi ngâm muối thấp hơn đáng kể so với cá tươi ($6,78 \pm 0,01$) ($p < 0,05$). Tuy nhiên, giá trị pH có khuynh hướng tăng (từ $6,58 \pm 0,03$ lên $6,90 \pm 0,04$) khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl ($p < 0,05$). Kết quả cho thấy với tỷ lệ NaCl: KCl là 70: 30% không có khác biệt ý nghĩa thống kê với mẫu đối chứng (sử dụng 100% NaCl). Mẫu cá lóc fillet ngâm trong dung dịch muối 100% KCl đạt giá trị pH cao nhất và có khác biệt ý nghĩa thống kê với các mẫu còn lại. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Song và cs (2020) [8] và Han và cs (1982) [14], các tác giả đã quan sát thấy sự gia tăng độ pH của thịt ức gà và thịt heo muối khi tỷ lệ phần trăm KCl thay thế muối NaCl tăng lên. Theo Jing và cs (2023) [6], điều này liên quan đến khả năng liên kết của ion Na^+ và K^+ với protein cơ thịt hoặc sự khác biệt về khả năng thẩm qua màng của ion Na^+ và K^+ . Việc muối bằng KCl có thể hiệu quả hơn trong việc thúc đẩy cường độ ion cao trong mô, so với việc muối bằng NaCl, do khả năng thâm nhập nhanh. Vì vậy, ức chế hiệu quả quá trình đường phân khi xử lý bằng KCl, cuối cùng góp phần làm tăng giá trị pH [7, 15].

Hàm lượng kali trong thịt cá lóc fillet tươi là $0,31 \pm 0,00$ g/100 g cao hơn hàm lượng natri là $0,02 \pm 0,00$ g/100 g (Bảng 2). Kết luận này tương đồng với nghiên cứu của Ullah và cs (2022) [16], theo đó, cá lóc có hàm lượng kali cao hơn so với natri. Kết quả ở bảng 2 cũng cho thấy, khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl, hàm lượng natri có khuynh hướng giảm từ $1,22 \pm 0,02$ xuống $0,04 \pm 0,01$ g/100 g và hàm lượng kali có khuynh hướng tăng từ $0,32 \pm 0,01$ lên $2,03 \pm 0,07$ g/100 g. Hàm lượng natri cao nhất ở mẫu sử dụng 100% NaCl (đối chứng) và thấp nhất ở mẫu sử dụng 100% KCl. Ngược lại, hàm lượng kali cao nhất ở mẫu sử dụng 100% KCl và thấp nhất ở mẫu sử dụng 100% NaCl (đối chứng). Giữa các tỷ lệ NaCl: KCl khác nhau, hàm lượng natri và kali đều khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Guo và cs (2019) [17], theo đó, việc thay thế một phần muối Na bằng muối K giúp giảm hàm lượng Na trong sản phẩm cơ bụng và cơ lưng cá trắm cỏ muối. Vì thế, kết quả cho thấy sự cải thiện hàm lượng kali khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl. Điều này góp phần làm giảm sự hấp thụ Na trong các sản phẩm muối truyền thống.

3.2. Sự biến đổi hàm lượng carbonyl, nhóm sulphydryl và chỉ số phân giải protein (PI) của cơ thịt cá lóc fillet ở các tỷ lệ muối NaCl: KCl khác nhau

Lipid cá chứa nhiều axit béo chưa bão hoà nên rất dễ bị oxy hoá trong quá trình chế biến và bảo quản [18]. Quá trình oxy hoá lipid sẽ kéo theo sự oxy hoá protein của cơ thịt cá lóc [19]. Độ ổn định oxy hoá của protein cơ thịt cá lóc fillet bị ảnh hưởng bởi sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl được thể hiện ở hình 1 và 2 cho thấy, sự biến đổi của hàm lượng carbonyl và nhóm sulphydryl ở các tỷ lệ muối NaCl: KCl khác nhau. Kết quả cho thấy, khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl, hàm lượng carbonyl có khuynh hướng tăng (từ $0,47 \pm 0,13$ lên $0,96 \pm 0,15$ nmol/mg protein). Khi thay

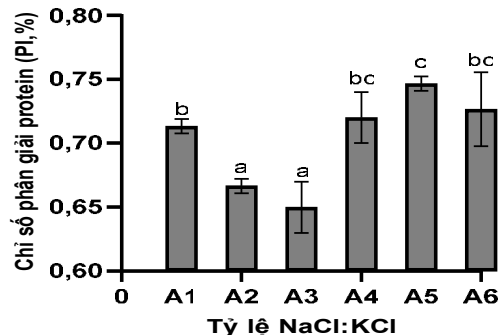
thế KCl ở mức 50 - 100%, hàm lượng carbonyl có khác biệt ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng (sử dụng 100% NaCl). Điều này cho thấy, KCl thúc đẩy đáng kể quá trình oxy hoá protein. Theo Jing và cs (2023) [6], carbonyl hoá là biến đổi hoá học quan trọng của quá trình oxy hoá protein, thường được sử dụng để mô tả mức độ oxy hoá protein. Du và cs (2022) [20] đã báo cáo rằng ion K^+ làm cho cấu trúc protein trở nên lỏng lẻo và đẩy nhanh quá trình oxy hoá protein. Gan và cs (2019) [21] cho rằng, carbonyl là sản phẩm chính của quá trình oxy hoá protein. Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc thay thế một phần NaCl bằng KCl có thể thúc đẩy quá trình oxy hóa protein, đặc biệt là việc thay thế 70% KCl thúc đẩy đáng kể quá trình này trong chế biến thịt xông khói.



Hình 1. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến hàm lượng carbonyl, hàm lượng nhóm sulphydryl của cơ thịt cá lóc fillet

Khác với carbonyl, hàm lượng nhóm sulphydryl có khuynh hướng giảm khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl (Hình 1). Hàm lượng nhóm sulphydryl trong mẫu được xử lý bằng 100% NaCl là $23,24 \pm 0,31$ μmol/g protein, giá trị này giảm xuống còn $16,30 \pm 0,15$ μmol/g protein khi mẫu được xử lý bằng 100% KCl ($16,30 \pm 0,15$). Với các tỷ lệ NaCl: KCl 70: 30%, 50: 50% và 30: 70%, hàm lượng nhóm sulphydryl không có khác biệt ý nghĩa thống kê và dao động trong khoảng 21,57 - 22,08 μmol/g protein. Kết quả tương tự được Zhang và cs (2020) [13] báo cáo rằng, khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl trong thịt lợn muối, hàm lượng sulphydryl tổng số giảm xuống. Sự suy giảm đáng kể hàm lượng nhóm sulphydryl khi tăng tỷ lệ thay thế KCl được cho là do các nhóm sulphydryl bị oxy hóa và hình thành các liên kết

disulfide liên phân tử và nội phân tử, hoặc bị oxy hóa thành các sản phẩm như axit sulfonic [6]. Sự hình thành nhóm carbonyl và mất nhóm sulphydryl là những chỉ số được sử dụng rộng rãi trong thực phẩm để đánh giá quá trình oxy hóa protein [21].



Hình 2. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến chỉ số phân giải protein (PI) của cơ thịt cá lóc fillet

Chỉ số phân giải protein (PI) là một chỉ số quan trọng để chỉ mức độ phân giải protein, đây là một phản ứng sinh hóa quan trọng trong quá trình chế biến các sản phẩm cá muối truyền thống [6]. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến PI của cá lóc fillet được thể hiện ở hình 2. Chỉ số PI của cơ thịt cá lóc ngâm trong 100% dung dịch muối NaCl khá cao ($0,71 \pm 0,01\%$). Tuy nhiên, khi thay thế KCl ở mức 30 - 50%, chỉ số phân giải protein giảm đáng kể so với mẫu đối chứng (sử dụng 100% NaCl), giá trị này dao động trong khoảng 0,65 - 0,67% ($p < 0,05$). Mặc khác, khi tăng mức thay thế KCl 70 - 100%, chỉ số phân giải protein tăng lên và không khác biệt so với mẫu đối chứng ($p > 0,05$). Điều này lý giải rằng, khi tiếp xúc với ion K^+ khả năng hydrat hóa cao, sự phân giải protein được tạo ra thông qua việc tăng cường lớp hydrat hóa trên bề mặt protein. Ion K^+ thúc đẩy mở cấu trúc protein làm phơi bày ra các chuỗi bên axit amin nhạy cảm hoặc các vị trí đặc hiệu. Khi tiếp xúc với ion K^+ có khả năng hydrat hóa cao, quá trình phân giải protein được kích thích thông qua sự gia cố lớp hydrat hóa trên bề mặt protein. Điều này có thể gợi ý rằng ion K^+ , ở một mức độ nhất định, thúc đẩy sự mở ra của cấu hình protein bằng cách phơi bày các chuỗi bên axit amin nhạy cảm hơn hoặc các vị trí liên kết đặc hiệu axit amin trên bề mặt protein-protein. Vì thế, các axit amin nhạy cảm, chẳng hạn như proline, axit aspartic và glutamine dễ bị oxy hóa cuối cùng dẫn đến sự phân hủy protein [6].

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ muối NaCl: KCl khác nhau đến sự thay đổi hiệu suất và tổn thất khi nấu của cá lóc fillet

Hiệu suất (%) và tổn thất khi nấu (%) của cá lóc fillet ngâm trong dung dịch muối ở tỷ lệ NaCl: KCl khác nhau được thể hiện ở bảng 3. Dữ liệu cho thấy, hiệu suất ở mẫu xử lý với tỷ lệ NaCl: KCl 50: 50% không có khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng (sử dụng 100% NaCl) (98%). Khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl ở mức 70 - 100%, hiệu suất có xu hướng tăng (từ $100,88 \pm 0,57$ lên $102,39 \pm 1,08\%$). Kết quả này phù hợp với sự thay đổi độ ẩm khi tăng tỷ lệ sử dụng KCl. Theo Jing và cs (2023) [6], việc thay thế NaCl bằng KCl đã làm tăng đáng kể hiệu suất cuối cùng, kết quả này là do việc tăng hàm lượng ẩm trong mô cơ thịt.

Bảng 3. Ảnh hưởng của sự thay thế một phần muối NaCl bằng KCl đến hiệu suất và tổn thất khi nấu của cá lóc fillet

Tỷ lệ NaCl: KCl	Hiệu suất (%)	Tổn thất khi nấu (%)
100: 0% (đối chứng)	$98,24^a \pm 0,30^*$	$21,67^a \pm 0,58$
70: 30%	$99,78^b \pm 0,14$	$22,0^{ab} \pm 2,00$
50: 50%	$98,57^a \pm 0,64$	$22,67^{ab} \pm 1,15$
30: 70%	$100,88^{bc} \pm 0,57$	$22,67^{ab} \pm 1,15$
10: 90%	$101,81^{cd} \pm 0,84$	$23,33^{ab} \pm 2,31$
0: 100%	$102,39^d \pm 1,08$	$24,67^b \pm 1,15$

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức 5% với kiểm định LSD. Các giá trị thể hiện 3 lần lặp lại $\pm$ độ lệch chuẩn.

Tổn thất khi nấu được phân tích để đánh giá tác động của việc thay thế KCl theo các tỷ lệ khác nhau đối với khả năng giữ nước của cơ thịt (Bảng 3). Tổn thất khi nấu tăng từ $21,67 \pm 0,58$ lên $24,67 \pm 1,15\%$ khi tăng tỷ lệ thay thế NaCl bằng KCl ($p < 0,05$). Tổn thất khi nấu thấp nhất là 21,67% đối với mẫu sử dụng 100% NaCl (đối chứng) và cao nhất là 24,67% đối với mẫu sử dụng 100% KCl. Các mẫu sử dụng tỷ lệ NaCl: KCl là 70: 30%, 50: 50%, 30: 70% và 10: 90% không có khác biệt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đối với cá rô phi fillet muối, tổn thất khi nấu (36,18%) ở nhóm đối chứng được ướp muối bằng NaCl thấp hơn đáng kể so với các mẫu sử dụng tỷ lệ thay thế 100% KCl (40,35%) [6]. Kết quả tương tự đối với thịt lợn muối, tổn thất khi nấu (40,55%) với tỷ lệ thay thế 100% KCl cao hơn đáng kể so với tỷ lệ muối 100% NaCl (36,45%) [13]. Do đó việc thay thế KCl đã gây ra sự thay đổi trong khả năng giữ nước của cá fillet muối.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ thay thế muối NaCl bằng KCl ảnh hưởng đáng kể đến các tính chất hóa lý của cá lóc fillet. Việc thay thế một phần muối NaCl bằng KCl giúp hạn chế sự mất ẩm và tổn thất hàm lượng ẩm trong quá trình ngâm muối. Hàm lượng carbonyl tăng và nhóm sulhydryl giảm khi thay thế một phần muối NaCl bằng KCl. Ngoài ra, khi thay thế muối KCl giúp tăng hiệu suất nhưng tăng tỷ lệ tổn thất khi nấu ở cá lóc fillet. Nghiên cứu này cho thấy rằng, ở tỷ lệ muối NaCl: KCl 50: 50% không chỉ giúp duy

trì được các tính chất hóa lý của protein cơ thịt cá lóc fillet mà còn giúp giảm hàm lượng Na và tăng hàm lượng K trong sản phẩm. Kết quả này góp phần làm giảm sự hấp thụ Na và giúp cải thiện sức khỏe người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Công Khẩn và Hà Thị Anh Đào (2007). *Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam*. Nxb Y học.
2. Trần Bạch Long và Nguyễn Văn Mười (2021). Đánh giá chất lượng khô cá lóc theo tiêu chuẩn Việt Nam. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*; 57, 1 - 9.
3. Oberleithner, H. & De Wardener, H. E. (2011). Sodium: A wolf in sheep's clothing, *Blood Purification*, 31(1 - 3), 82 - 85.
4. WHO (2016). Salt reduction, Online available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>. [Accessed 01/12/2019].
5. WHO (2012). Guideline: Potassium intake for adults and children, World Health Organization.
6. Jing, L., Xue, J., Jiang, X., Xiao, N., Pan, H., Li, J., Wang, D., Jiang, Q. & Shi, W. (2023). Effects of partial replacement of NaCl with KCl on protein Properties and quality attributes of lightly salted tilapias fillets. *Foods*, 12(6), 1184.
7. AOAC (1999). Official methods of analysis, Association of official analytical chemists, Washington.
8. Song, D. H., Ham, Y. K., Ha, J. H., Kim, Y. R., Chin, K. B. & Kim, H. W. (2020). Impacts of pre-rigor salting with KCl on technological properties of ground chicken breast. *Poultry science*, 99(1), 597 - 603.
9. Wu, H., Zhang, Y., Long, M., Tang, J., Yu, X., Wang, J. & Zhang, J. (2014). Proteolysis and sensory properties of dry-cured bacon as affected by the partial substitution of sodium chloride with potassium chloride, *Meat science*, 96(3), 1325 - 1331.
10. X. Chen, J. Luo, A. Lou, Y. Wang, D. Yang and Q. W. Shen (2021). Duck breast muscle proteins, free fatty acids and volatile compounds as affected by curing methods. *Food Chemistry*, 338, 128 - 138.
11. Zheng, J. B., Han, Y. R., Ge, G., Zhao, M. M. & Sun, W. Z. (2019). Partial substitution of NaCl with chloride salt mixtures: Impact on oxidative characteristics of meat myofibrillar protein and their rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 96, 36 - 42.
12. Chaijan M. (2011). Physicochemical changes of tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle during salting. *Food Chemistry*, 129(3), 1201 - 1210.
13. Zhang, D., Emara, H., Li, A. M., Wang, Z., Chen, X. & He, Z. (2020). Study on the mechanism of KCl replacement of NaCl on the water retention of salted pork. *Food Chemistry*, 332, 127414.
14. Hand, L. W., Terrell, R. N. & Smith, G. C. (1982). Effects of complete or partial replacement of sodium chloride on processing and sensory properties of hams. *Journal of Food Science*, 47(6), 1776 - 1778.
15. Coon, F. P., Calkins, C. R. & Mandigo, R. W. (1993). Pre-and post-rigor sectioned and formed beef steaks manufactured with different salt levels, mixing times and tempering times, *Journal of Food Science*, 48(6), 1731 - 1734.
16. Ullah, M. R., Rahman, M. A., Haque, M. N., Sharker, M. R., Islam, M. M. & Alam, M. A. (2022). Nutritional profiling of some selected commercially important freshwater and marine water fishes of Bangladesh. *Heliyon*, 8(10), e10825.
17. Guo, X., Chen, S., Cao, J., Zhou, J., Chen, Y., Jamali, M. A. & Zhang, Y. (2019). Hydrolysis and oxidation of protein and lipids in dry-salted grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) as affected by partial substitution of NaCl with KCl and amino acids. *RSC Advances*. 9(68), 39545 - 39560.
18. Rao, B. K. & Bandyopadhyay. C (1983). Lipid composition of salted sun-dried Indian Mackerel (*Rastrelliger kanagurta*). *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, 20(2), 62 - 64.
19. Trần Bạch Long, Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc. (2019). Ảnh hưởng của ướp muối đến sự oxy hóa lipid và oxy hóa protein trong cơ thịt cá lóc (*Channa striata*) nuôi. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*; 55, 301 - 310.

20. Du, X., Li, X., Wang, Q., Liu, Q., Chen, Q. & Kong, B. (2022). Influence of partial replacements of NaCl by KCl on quality characteristics and the heterocyclic aromatic amine contents of bacon. *Foods*, 11(2), 143.
21. Gan, X., Li, H., Wang, Z., Emara, M. A., Zhang, D., He, Z. (2019). Does protein oxidation affect proteolysis in low sodium Chinese traditional bacon processing. *Meat Science*, 150, 14 - 22.

EFFECT OF PARTIAL REPLACEMENT OF NaCl BY KCl ON PHYSIOCHEMICAL PROPERTIES OF SNAKEHEAD FILLET

Nguyen Quynh Nhu¹, Nguyen Phung Tien¹, Nguyen Van Muoi², Tran Hong Quan²

¹ *Faculty of Food - Biochemistry, Vinh Long University of Technology Education*

² *Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

Abstract

The partial replacement of sodium chloride (NaCl) with potassium chloride (KCl) at varying ratios (100: 0%, 70: 30%, 50: 50%, 30: 70%, 10: 90%, 0: 100%) was evaluated for its effects on the physicochemical properties of snakehead fish fillets, including moisture content, pH, Na and K levels, protein degradation index (PI), carbonyl content, sulfhydryl groups, cooking yield, cooking loss. The results indicated that the 50: 50% NaCl: KCl ratio was the most suitable, maintaining moisture and pH, stabilizing protein oxidation and degradation, and showing no significant differences in yield or cooking loss compared to the control. Notably, this ratio significantly reduced sodium and increased potassium contents. This study supports the development of healthier salted fish products by reducing sodium intake.

Keywords: *Snakehead fish fillet, NaCl, KCl, physiochemical properties.*

Ngày nhận bài: 15/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 10/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 20/7/2025

Ngày duyệt đăng: 31/7/2025

NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT RÀO CẢN TRONG SẢN XUẤT SẢN PHẨM TÔM KHÔ THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) XẺ BƯỚM

Trương Thị Mộng Thu¹, Lê Thị Minh Thủy¹, Trần Thanh Trúc^{2,*}

¹Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ

²Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

*Email: tttruc@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật rào cản trong chế biến sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm tập trung vào việc kết hợp xử lý nhiệt với bổ sung glycerol và NaCl nhằm kiểm soát hoạt độ nước (a_w) của sản phẩm. Bốn thí nghiệm được thực hiện gồm: (i) Ảnh hưởng của tỷ lệ glycerol và NaCl, (ii) Nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp, (iii) Nhiệt độ sấy tôm và (iv) Thời gian bảo quản lạnh đến chất lượng sản phẩm. Kết quả cho thấy, dung dịch ngâm thích hợp nhất là 15% glycerol và 5% NaCl, nhiệt độ tâm tôm khi hấp là $80 \pm 1^\circ\text{C}$, sấy tôm ở 60°C . Với điều kiện này, sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm thu được có cảm quan tốt ($19,3 \pm 0,60$ điểm), độ ẩm $32,8 \pm 0,89\%$, a_w $0,744 \pm 0,009$, độ cứng $15,9 \pm 0,203$ kg, hiệu suất thu hồi $21,4 \pm 0,988\%$ và màu sắc đẹp. Sản phẩm vẫn đảm bảo an toàn vi sinh và chất lượng cảm quan trong 4 tuần bảo quản ở ($0 - 4^\circ\text{C}$) trong bao bì PA, hút chân không.

Từ khóa: Hoạt độ nước, kỹ thuật rào cản, NaCl và glycerol, sấy, tôm thẻ chân trắng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành thủy sản Việt Nam giữ vai trò quan trọng trong cơ cấu kinh tế nông nghiệp, đóng góp khoảng 3,2% GDP cả nước năm 2024. Trong đó, tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) chiếm hơn 40% với giá trị xuất khẩu khoảng 4 tỷ USD [1]. Bên cạnh tôm tươi đông lạnh, tôm thẻ chân trắng được chế biến thành các sản phẩm như: Tôm khô, chả tôm, thực phẩm lên men...do có hàm lượng đạm cao, ít chất béo và giàu axit amin thiết yếu [2]. Trong đó, tôm khô chiếm tỷ trọng đáng kể [3], tuy nhiên, để sản phẩm này đạt chất lượng ổn định và đáp ứng yêu cầu kỹ thuật, cần nghiên cứu và hoàn thiện quy trình chế biến, đặc biệt là ứng dụng kỹ thuật rào cản, những biện pháp giúp kéo dài thời hạn sử dụng, bảo đảm an toàn thực phẩm.

Kỹ thuật rào cản như ứng dụng ướp muối kết hợp phụ gia (glycerol, sorbitol...) với xử lý nhiệt (hấp hoặc sấy) là những rào cản giúp giảm hoạt độ nước, ức chế vi sinh vật và làm chậm quá trình hư hỏng, được ứng dụng trong nghiên cứu này giúp bảo quản sản phẩm tôm khô [4]. Trong đó, xử lý nhiệt nhẹ (nhiệt độ tâm: $70 - 110^\circ\text{C}$) có thể cải thiện giá trị cảm quan và giá trị dinh dưỡng cho

thực phẩm. Tuy nhiên, xử lý nhiệt nhẹ các bào tử vi khuẩn vẫn còn tồn tại do đó để ức chế cần điều chỉnh thêm bằng a_w , pH, Eh,... Trong đó, giảm hoạt độ nước là một biện pháp hiệu quả để bảo quản thực phẩm, giúp ức chế vi sinh vật và làm chậm quá trình hư hỏng. Điều này có thể thực hiện bằng cách tách nước thẩm thấu và sấy [5]. Do đó, Trần Thị Mộng Thảo (2014) [3] đã nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật rào cản trong chế biến tôm khô sủi ăn liền có độ ẩm cao. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các thông số kỹ thuật trong quá trình xử lý nhiệt (hấp và sấy tôm) kết hợp với bổ sung NaCl và glycerol để kiểm soát hoạt độ nước nhằm đảm bảo chất lượng cảm quan, dinh dưỡng và cấu trúc sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm tốt nhất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

Tôm thẻ chân trắng (50 - 60 con/kg) được nuôi từ trại thực nghiệm Khoa Công nghệ Nuôi trồng Thủy sản, Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Tôm sau khi thu hoạch được sơ chế (bỏ đầu, rút chỉ lưng), rửa sạch và tiến hành thí nghiệm. Tôm nguyên liệu được lột vỏ và xay nhuyễn để

phân tích thành phần hóa học cơ bản như độ ẩm, protein, lipid và khoáng.

Phụ gia: NaCl (hàm lượng NaCl > 97%) được mua từ siêu thị Coopmart (phường Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ), glycerol ($\geq 99\%$) được mua tại Công ty Cổ phần Hóa chất miền Nam chi nhánh Cần Thơ (phường Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ).

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nồng độ glycerol và NaCl đến chất lượng tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Thí nghiệm được thiết kế với hai nhân tố: nồng độ glycerol (10% và 15%) và nồng độ NaCl (3%, 5% và 7%). Tổng cộng có 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, với 18 mẫu thí nghiệm, mỗi mẫu có khối lượng 200 g. Tôm sau sơ chế như mục 2.1 được ngâm trong dung dịch chứa glycerol và NaCl với nồng độ như bố trí thí nghiệm. Thời gian ngâm 60 phút với tỷ lệ tôm và dung dịch ngâm là 1: 1 (w/v) ở nhiệt độ 0 - 4°C. Sau khi ngâm, tôm được để ráo trong 2 phút, sau đó cố định tôm bằng xiên que. Quá trình hấp được thực hiện cho đến khi nhiệt độ tâm tôm đạt $75 \pm 1^\circ\text{C}$. Sau khi hấp, tôm được lột PTO, xẻ bướm, xếp lên khay và sấy ở 60°C cho đến khi độ ẩm đạt khoảng 32% [3]. Sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được phân tích các chỉ tiêu như hiệu suất thu hồi, độ ẩm, hoạt độ nước (a_w), màu sắc, cảm quan và độ cứng nhằm xác định nồng độ glycerol và NaCl thích hợp nhất.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp đến chất lượng tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Thí nghiệm được thực hiện với một nhân tố là nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp, gồm bốn mức: $70 \pm 1^\circ\text{C}$, $75 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 1^\circ\text{C}$ và $85 \pm 1^\circ\text{C}$. Tổng cộng có 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, với 12 đơn vị thí nghiệm, mỗi mẫu có khối lượng 200 g. Tôm được xử lý như mục 2.1, sau đó ngâm trong dung dịch NaCl và glycerol với nồng độ thích hợp được xác định từ thí nghiệm 1. Quá trình hấp được thực hiện cho đến khi nhiệt độ tâm tôm đạt giá trị yêu cầu theo từng nghiệm thức. Sau khi hấp, tôm tiếp tục thực hiện các công đoạn như thí nghiệm 1 để thu sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm. Các chỉ tiêu chất lượng bao gồm

hiệu suất thu hồi, độ ẩm, hoạt độ nước (a_w), màu sắc, cảm quan và độ cứng của sản phẩm được phân tích nhằm xác định nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp phù hợp nhất.

2.2.3. Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Thí nghiệm được thực hiện với một nhân tố là nhiệt độ sấy, gồm bốn mức: 50, 60, 70 và 80°C. Tổng cộng có 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, với 12 mẫu, mỗi mẫu có khối lượng 200 g. Tôm được xử lý như mục 2.1, sau đó ngâm trong dung dịch NaCl và glycerol với nồng độ thích hợp được xác định từ thí nghiệm 1. Quá trình hấp được thực hiện với nhiệt độ tâm tôm phù hợp được xác định từ thí nghiệm 2. Sau khi hấp, tôm được lột PTO, xẻ bướm và xếp lên khay và sấy ở các mức nhiệt độ khác nhau như bố trí thí nghiệm cho đến khi đạt độ ẩm khoảng 32% để thu được sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm. Sản phẩm được đánh giá các chỉ tiêu chất lượng bao gồm: Hiệu suất thu hồi, độ ẩm, hoạt độ nước (a_w), màu sắc, cảm quan và độ cứng. Từ đó, xác định nhiệt độ sấy phù hợp nhất nhằm đảm bảo chất lượng tốt nhất cho sản phẩm.

2.2.4. Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến chất lượng sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm có chất lượng tốt nhất được chọn từ thí nghiệm 3, được bao gói PA, hút chân không và bảo quản ở nhiệt độ 0 - 4°C trong 4 tuần. Mẫu được thu theo tần suất 1 lần/tuần, với các mốc thời gian: 0, 1, 2, 3 và 4 tuần. Thí nghiệm bao gồm 5 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, với 15 mẫu, mỗi mẫu có khối lượng 100 g sản phẩm. Mẫu được thu định kỳ mỗi tuần để phân tích các chỉ tiêu chất lượng gồm: Độ ẩm, hoạt độ nước (a_w), màu sắc, cảm quan, độ cứng và tổng số vi khuẩn hiếu khí. Kết quả thu được giúp xác định thời gian bảo quản lạnh vẫn duy trì chất lượng sản phẩm.

2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

2.3.1. Chỉ tiêu và phương pháp phân tích

Độ ẩm, hàm lượng protein, lipid và khoáng của nguyên liệu và sản phẩm được phân tích theo AOAC (2016) [6]. Độ hoạt động của nước (a_w) của sản phẩm được đo bằng máy đo hoạt độ, hoạt tính

của nước cầm tay WA-60A (Trung Quốc). Tổng số vi khuẩn hiếu khí (CFU/g) được xác định theo phương pháp đổ đĩa theo TCVN 5165:1990 [7].

Hiệu suất thu hồi sản phẩm (%) = $M_{SP} \cdot 100 / M_{NL}$ (trong đó M_{NL} (g) là khối lượng nguyên liệu ban đầu, M_{SP} (g) là khối lượng sản phẩm).

Màu sắc (L^* , a^* , b^*) của sản phẩm được đo bằng thiết bị đo màu (PCE - CSM 2, Trung Quốc) với hệ màu CIE bằng đèn D65, các giá trị L^* (màu đen đến màu trắng), a^* (màu đỏ đến màu xanh lá) và b^* (màu vàng đến màu xanh da trời).

Độ cứng (g lực) của sản phẩm: Sử dụng máy đo cấu trúc TA.XT plus Texture Analyser. Dùng đầu dò P/25 đo với tốc độ 0,5 cm/giây đến độ biến dạng của mẫu là 75%.

Đánh giá cảm quan sản phẩm bằng phương pháp cho điểm dựa trên các chỉ tiêu màu sắc, mùi, vị và cấu trúc của sản phẩm theo bảng mô tả sản phẩm trình bày ở bảng 1 được xây dựng theo TCVN 3215-79 [8]. Với hệ số quan trọng của các chỉ tiêu màu sắc (1,0), mùi (0,8), vị (1,0) và cấu trúc (1,2).

Bảng 1. Bảng mô tả sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm theo thang điểm 5

Chỉ tiêu	Điểm	Mô tả
Màu sắc	5	Sản phẩm có màu đỏ cam
	4	Sản phẩm có màu đỏ cam nhạt
	3	Sản phẩm có màu đỏ cam rất nhạt
	2	Sản phẩm có màu hồng nhạt
	1	Sản phẩm có màu hồng rất nhạt
Cấu trúc	5	Sản phẩm có cấu trúc săn chắc, dai
	4	Sản phẩm có cấu trúc săn chắc, kém dai
	3	Sản phẩm có cấu trúc kém săn chắc
	2	Sản phẩm có cấu trúc cứng hoặc mềm
	1	Sản phẩm có cấu trúc rất cứng hoặc rất mềm
Mùi	5	Sản phẩm có mùi thơm đặc trưng, không có mùi tanh
	4	Sản phẩm có mùi thơm kém đặc trưng, không có mùi tanh
	3	Sản phẩm có mùi thơm nhẹ không đặc trưng
	2	Sản phẩm mùi không thơm
	1	Sản phẩm có mùi lạ
Vị	5	Sản phẩm có vị mặn ngọt hài hòa rất đặc trưng
	4	Sản phẩm có vị mặn ngọt hài hòa đặc trưng
	3	Sản phẩm có vị mặn ngọt hài hòa kém đặc trưng
	2	Sản phẩm có vị hơi mặn hoặc hơi nhạt
	1	Sản phẩm có vị quá mặn hoặc quá nhạt

2.3.2. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 để tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Phân tích thống kê và đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong cùng một thí nghiệm được thực hiện bằng phần mềm SPSS 20.0, áp dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan ($p < 0,05$) nhằm xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các trung bình nghiệm thức.

Bảng 2. Thành phần hóa học của tôm thẻ chân trắng

Chỉ tiêu	Ẩm độ (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Khoáng (%)
Hàm lượng	$77,3 \pm 0,18$	$18,7 \pm 0,2$	$1,06 \pm 0,34$	$1,51 \pm 0,3$

Ghi chú: Số liệu thống kê được mô tả dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của tôm thẻ chân trắng

Các chỉ tiêu hóa học cơ bản của nguyên liệu như: Độ ẩm, protein, lipid và khoáng được phân tích nhằm đề xuất biện pháp xử lý phù hợp, giúp nâng cao chất lượng sản phẩm và cải thiện hiệu suất thu hồi. Kết quả thành phần hóa học của tôm thẻ chân trắng được trình bày trong bảng 2.

Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng protein trong thịt tôm đạt $18,7 \pm 0,2\%$, đây là nguồn dinh dưỡng quan trọng cung cấp protein và axit amin thiết yếu cho cơ thể người [2]. Nguyên liệu tôm có độ ẩm cao ($77,3 \pm 0,18\%$), trong khi hàm lượng lipid và khoáng tương đối thấp ($1,06 \pm 0,34\%$ và $1,51 \pm 0,3\%$ tương ứng), giúp sản phẩm dễ tiêu hóa và hạn chế quá trình oxy hóa chất béo, góp phần kéo dài thời gian bảo quản. Tuy nhiên, theo Nguyen (2019) [9] thực phẩm có độ ẩm cao là môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển, làm gia tăng nguy cơ biến đổi chất lượng nếu quá trình xử lý và chế biến không được kiểm soát tốt. Do đó, việc áp dụng kỹ thuật rào cản như xử lý nhiệt (hấp, sấy) và kết hợp với ngâm thẩm thấu là cần thiết để

kiểm soát hoạt độ nước nhằm giảm thiểu các biến đổi không mong muốn và nâng cao chất lượng sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm là cần thiết thực hiện [4].

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ glycerol và NaCl đến chất lượng tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Theo Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc (2008) [10], glycerol và NaCl đóng vai trò quan trọng trong việc giảm hoạt độ nước (a_w), từ đó kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm. Ảnh hưởng của hai yếu tố này đến độ ẩm, a_w , hiệu suất thu hồi và độ cứng của tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Độ ẩm, a_w , hiệu suất thu hồi và độ cứng của sản phẩm theo nồng độ glycerol và NaCl

Glycerol (%)	NaCl (%)	Độ ẩm (%)	a_w	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ cứng (kg)
10	3	$36,1 \pm 1,54^a$	$0,866 \pm 0,027^a$	$20,1 \pm 0,89^{ab}$	$14,1 \pm 0,66^a$
	5	$35,0 \pm 0,80^{ab}$	$0,828 \pm 0,003^{ab}$	$20,7 \pm 0,66^a$	$13,8 \pm 0,72^a$
	7	$33,9 \pm 0,86^{abc}$	$0,789 \pm 0,026^{bc}$	$20,1 \pm 0,91^{ab}$	$13,2 \pm 0,85^a$
15	3	$32,9 \pm 0,95^{bc}$	$0,778 \pm 0,022^{cd}$	$19,5 \pm 0,12^{bc}$	$11,2 \pm 0,28^b$
	5	$31,9 \pm 0,94^c$	$0,746 \pm 0,024^{de}$	$19,2 \pm 0,41^{ab}$	$11,5 \pm 0,90^b$
	7	$32,2 \pm 1,59^c$	$0,715 \pm 0,009^e$	$18,4 \pm 0,99^c$	$10,3 \pm 0,33^b$
Giá trị p		0,030	0,000	0,030	0,001

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Số liệu thống kê được mô tả dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn.

Bảng 3 cho thấy, sự thay đổi nồng độ glycerol và NaCl có tác động đáng kể đến các chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm ($p < 0,05$). Khi tăng nồng độ glycerol từ 10% lên 15% và NaCl từ 3% lên 7%, thì độ ẩm giảm từ $36,1 \pm 1,54\%$ xuống $32,2 \pm 1,59\%$; a_w giảm từ $0,866 \pm 0,027$ xuống $0,715 \pm 0,009$; hiệu suất thu hồi giảm từ $20,1 \pm 0,89\%$ xuống $18,4 \pm 0,99\%$ và độ cứng giảm từ $14,1 \pm 0,66$ kg xuống $10,3 \pm 0,33$ kg. Sự thay đổi này chủ yếu do hiện tượng thẩm thấu xảy ra trong quá trình ngâm, làm nước bên trong nguyên liệu di chuyển ra ngoài dung dịch và các chất hòa tan từ dung dịch khuếch tán vào trong mô tôm. Tuy nhiên, nước tách ra nhiều hơn lượng chất tan đi vào, nên độ ẩm, a_w và hiệu

suất thu hồi sản phẩm giảm [11]. Bên cạnh đó, Nguyễn Văn Mười và Trần Thanh Trúc (2008) [10] cũng chỉ ra rằng NaCl có khả năng liên kết với nước trong nguyên liệu, giúp giảm lượng nước tự do nên a_w giảm. Theo Mori và cs (2001) [12] glycerol có khối lượng phân tử thấp, có thể phá vỡ mạng lưới protein trong cơ thịt, làm tăng tính linh động các phân tử và làm mềm cấu trúc sản phẩm, nên giảm độ cứng sản phẩm khi tăng nồng độ glycerol từ 10% lên 15%.

Ảnh hưởng của nồng độ glycerol và NaCl đến cảm quan và màu sắc sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Màu sắc và cảm quan của sản phẩm theo nồng độ glycerol và NaCl khác nhau

Glycerol (%)	NaCl (%)	L*	a*	b*	ĐTBCTL
10	3	$51,0 \pm 1,5^a$	$19,9 \pm 0,4^{cd}$	$19,1 \pm 1,66^c$	$16,5 \pm 0,55^c$
	5	$49,9 \pm 1,6^a$	$18,9 \pm 1,5^{cd}$	$21,5 \pm 0,91^{bc}$	$17,3 \pm 0,56^d$
	7	$44,5 \pm 1,6^b$	$17,6 \pm 1,3^d$	$22,6 \pm 3,44^{bc}$	$17,6 \pm 0,32^{cd}$

15	3	$52,8 \pm 2,2^a$	$26,0 \pm 2,2^a$	$30,5 \pm 1,09^a$	$18,5 \pm 0,15^b$
	5	$51,6 \pm 2,5^a$	$24,4 \pm 2,7^{ab}$	$26,5 \pm 4,63^{ab}$	$19,2 \pm 0,45^a$
	7	$50,7 \pm 1,0^a$	$22,0 \pm 1,5^{bc}$	$26,4 \pm 2,29^{ab}$	$18,2 \pm 0,36^{bc}$
Giá trị p		0,010	0,001	0,011	0,000

Ghi chú: Tương tự bảng 2. DTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 4 cho thấy, sự thay đổi nồng độ glycerol và NaCl có ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc (L^* , a^* , b^*) cũng như cảm quan của tôm khô thể chân trắng xẻ bướm ($p < 0,05$). Tuy nhiên, tác động đến màu sắc không quá lớn, ngoại trừ một số trường hợp cụ thể: Khi tăng nồng độ NaCl từ 3% lên 7%, giá trị L^* giảm ở mức glycerol 10%. Ngược lại, khi tăng glycerol từ 10% lên 15%, giá trị L^* có xu hướng tăng ở nồng độ NaCl 7%, giá trị a^* tăng ở tất cả các mức NaCl và giá trị b^* tăng khi NaCl ở mức 3%. Hiện tượng này có thể giải thích khi nồng độ NaCl tăng từ 3% lên 7% làm sản phẩm có màu sậm hơn do mất nước nên làm giảm giá trị L^* . Trong khi glycerol tham gia vào các phản ứng Maillard với protein [13], nên giá trị a^* , b^* tăng khi tăng glycerol từ 10% lên 15%.

Bảng 4 cho thấy, nghiệm thức có nồng độ glycerol 15% và NaCl 5% đạt điểm cảm quan cao nhất ($19,2 \pm 0,45$ điểm). Ở mức này, sản phẩm có sự hài hòa giữa vị mặn và ngọt, màu đỏ đặc trưng và cấu trúc săn chắc, dẻo dai. Trong khi đó, khi

kết hợp glycerol 15% với NaCl 3%, sản phẩm có vị nhạt, ngược lại khi NaCl ở mức 7%, vị mặn rõ rệt. Khi nồng độ glycerol 10%, sản phẩm có vị nhạt, kém hài hòa về vị mặn ngọt ở các mức NaCl.

Giá trị a_w khoảng $0,65 \pm 0,80$ có khả năng bảo quản tốt, ức chế hoạt động của vi sinh vật [14, 15]. Do đó, kết hợp kết quả tại bảng 3 và 4, nghiệm thức với dung dịch ngâm 15% glycerol và 5% NaCl có điểm trung bình có trọng lượng cao nhất $19,2 \pm 0,45$, sản phẩm đạt độ ẩm ($31,9 \pm 0,94\%$), độ cứng $11,5 \pm 0,90$ kg, hiệu suất thu hồi $19,2 \pm 0,41\%$, màu sắc hấp dẫn và a_w thích hợp nên được lựa chọn là điều kiện tốt nhất để tiếp tục các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp đến chất lượng tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Ảnh hưởng của nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp đến độ ẩm, a_w , hiệu suất thu hồi và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5. Độ ẩm, a_w , hiệu suất thu hồi, cảm quan và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm theo nhiệt độ tâm tôm khác nhau trong quá trình hấp

Nhiệt độ tâm ($^{\circ}\text{C}$)	Độ ẩm (%)	a_w	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ cứng (kg)
70 ± 1	$33,6 \pm 0,55^a$	$0,787 \pm 0,018^a$	$24,9 \pm 0,554^a$	$13,5 \pm 0,641^b$
75 ± 1	$32,8 \pm 0,43^a$	$0,766 \pm 0,017^{ab}$	$21,9 \pm 0,931^b$	$13,8 \pm 0,611^b$
80 ± 1	$32,5 \pm 0,64^{ab}$	$0,746 \pm 0,016^{bc}$	$20,3 \pm 0,727^c$	$15,8 \pm 0,300^a$
85 ± 1	$31,6 \pm 0,69^b$	$0,744 \pm 0,008^{cd}$	$18,6 \pm 0,557^d$	$16,4 \pm 0,845^a$
Giá trị p	0,022	0,027	0,000	0,001

Ghi chú: Tương tự bảng 2. DTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 5 cho thấy, sự thay đổi nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp ảnh hưởng đáng kể đến độ ẩm, a_w , hiệu suất thu hồi, cảm quan và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm ($p < 0,05$). Khi nhiệt độ tâm tôm tăng từ $70 \pm 1^{\circ}\text{C}$ lên $85 \pm 1^{\circ}\text{C}$, độ ẩm, a_w và hiệu suất thu hồi giảm tương ứng lần lượt từ $33,6 \pm 0,55\%$; $0,787 \pm 0,018$; $24,9 \pm 0,554\%$ xuống $31,6 \pm 0,69\%$; $0,744 \pm 0,008$; $18,6 \pm 0,557\%$, trong khi độ cứng của sản phẩm tăng từ $13,5 \pm 0,641$ kg lên $16,4 \pm 0,845$ kg. Nguyên nhân

của hiện tượng này là do nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp càng cao thì thời gian hấp càng kéo dài (88 - 121 giây), làm lượng nước giữ lại trong mô thịt tôm giảm, dẫn đến độ ẩm và a_w giảm. Quá trình mất nước chủ yếu là kết quả của sự biến tính protein trong khi gia nhiệt, làm giảm khả năng giữ nước trong cấu trúc cơ thịt. Do đó, nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp càng cao dẫn đến khối lượng hao hụt lớn hơn, làm giảm hiệu suất thu hồi sản phẩm. Ngoài ra, theo Niamnuy và cs (2007)

[16], quá trình gia nhiệt làm tăng tính dai và co rút cơ, đồng thời kích thích sự biến tính và đông tụ protein, giảm khả năng giữ nước của mô thịt, làm tăng độ cứng sản phẩm.

Ảnh hưởng của nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp đến cảm quan và màu sắc của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Cảm quan và màu sắc của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm theo nhiệt độ tâm tôm

Nhiệt độ tâm (°C)	L*	a*	b*	ĐTBCTL
70 ± 1	52,1 ± 0,4 ^c	19,7 ± 0,7 ^c	19,0 ± 0,65 ^c	16,5 ± 0,31 ^c
75 ± 1	53,0 ± 0,8 ^{cb}	21,6 ± 1,0 ^b	21,7 ± 0,95 ^b	18,3 ± 0,57 ^{ab}
80 ± 1	54,4 ± 1,3 ^{ba}	22,1 ± 0,6 ^{ab}	22,5 ± 0,93 ^b	19,1 ± 0,60 ^a
85 ± 1	54,8 ± 0,4 ^a	23,3 ± 0,6 ^a	24,5 ± 0,78 ^a	17,6 ± 0,70 ^b
Giá trị p	0,010	0,002	0,000	0,003

Ghi chú: Tương tự bảng 2.

Bảng 6 cho thấy, sự thay đổi nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp có ảnh hưởng đáng kể đến cảm quan và màu sắc (L*, a*, b*) của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm (p < 0,05). Theo kết quả trong bảng 5, sản phẩm có chất lượng cảm quan cao nhất (19,1 ± 0,60 điểm) khi nhiệt độ tâm tôm đạt 80 ± 1°C với đặc điểm cấu trúc săn chắc, dẻo dai, vị mặn ngọt cân đối và màu sắc hài hòa. Khi nhiệt độ tâm tôm ở (70 ± 1°C và 75 ± 1°C), sản phẩm có kết cấu kém săn chắc, trong khi ở nhiệt độ 85 ± 1°C, sản phẩm trở nên cứng hơn do mất nước. Kết quả ở bảng 6 cho thấy, giá trị L*, a* và b* tăng tương ứng từ 52,1 ± 0,4; 19,7 ± 0,7; 19,0 ± 0,65 lên 54,8 ± 0,4; 23,3 ± 0,6; 24,5 ± 0,78 khi nhiệt độ tâm tôm tăng từ 70 ± 1°C lên 85 ± 1°C. Điều này được giải thích bởi đặc tính của carotenoids, cụ thể là astaxanthin - sắc tố chính trong các loài giáp xác, chiếm từ 86 - 98% tổng lượng carotenoids. Khi ở trạng thái kết hợp với protein, astaxanthin có màu xanh tím, nhưng dưới tác động của nhiệt độ trong quá trình hấp, sắc tố này tách khỏi protein và bị oxy hóa thành astaxin có màu đỏ gạch [17]. Do đó, khi nhiệt độ tâm tôm càng cao, cường độ màu đỏ càng lớn, dẫn đến giá trị a* tăng. Bên cạnh đó,

nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp càng cao thì thời gian hấp càng kéo dài, dẫn đến phản ứng Maillard giữa glycerol và protein của thịt tôm xảy ra nhiều dẫn đến giá trị b* tăng [13].

Kết hợp kết quả tại bảng 5 và 6, nghiệm thức có nhiệt độ tâm tôm đạt 80 ± 1°C có điểm trung bình có khối lượng cao nhất 9,1 ± 0,60, sản phẩm đạt độ ẩm (32,5 ± 0,64%), độ cứng 15,8 ± 0,300 kg, màu sắc hấp dẫn và giá trị a_w (0,746 ± 0,016) thích hợp nên được lựa chọn là điều kiện tốt nhất để tiếp tục các thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Quá trình sấy đóng vai trò quan trọng trong việc bảo quản sản phẩm bằng cách loại bỏ một lượng lớn nước, đặc biệt là nước tự do có trong thực phẩm. Nhờ đó, độ hoạt động của nước được giảm xuống, giúp kiểm soát hoạt động của enzyme và vi sinh vật - tác nhân chính gây hư hỏng thực phẩm [18]. Tác động của nhiệt độ sấy đến các chỉ tiêu chất lượng như độ ẩm, a_w, hiệu suất thu hồi, cảm quan và độ cứng sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7. Độ ẩm, a_w, hiệu suất thu hồi, cảm quan và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm theo nhiệt độ sấy khác nhau

Nhiệt độ sấy (°C)	Độ ẩm (%)	a _w	Hiệu suất thu hồi (%)	Độ cứng (kg)	ĐTBCTL
50	33,1 ± 0,89 ^a	0,775 ± 0,007 ^c	22,1 ± 1,278 ^a	13,6 ± 0,751 ^d	17,0 ± 0,47 ^c
60	32,8 ± 0,89 ^a	0,744 ± 0,009 ^b	21,4 ± 0,988 ^a	15,9 ± 0,203 ^c	19,3 ± 0,60 ^a
70	30,9 ± 0,16 ^b	0,753 ± 0,009 ^b	21,0 ± 0,554 ^{ab}	17,6 ± 0,971 ^b	18,5 ± 0,35 ^{ab}
80	29,8 ± 0,43 ^b	0,729 ± 0,008 ^a	19,5 ± 0,270 ^b	20,2 ± 0,473 ^a	17,6 ± 0,72 ^{bc}
Giá trị p	0,001	0,001	0,032	0,000	0,004

Ghi chú: Tương tự bảng 2, ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 7 cho thấy, sự thay đổi nhiệt độ sấy ảnh hưởng đáng kể đến các chỉ tiêu chất lượng như: Độ ẩm, a_w , hiệu suất thu hồi, cảm quan và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm ($p < 0,05$). Khi nhiệt độ sấy tăng từ 50°C lên 80°C, độ ẩm, a_w và hiệu suất thu hồi giảm tương ứng từ $33,1 \pm 0,89\%$; $0,775 \pm 0,007$ và $22,1 \pm 1,278\%$ xuống còn $29,8 \pm 0,43\%$; $0,729 \pm 0,008$ và $19,5 \pm 0,270\%$, tuy nhiên độ cứng sản phẩm tăng từ $13,6 \pm 0,751$ kg lên $20,2 \pm 0,473$ kg. Theo Nguyễn Trọng Cẩn và Đỗ Minh Phụng (1990) [18] khi nhiệt độ sấy tăng, tốc độ làm khô cũng tăng do sự khuếch tán ẩm diễn ra nhanh hơn, làm giảm độ ẩm, a_w và hiệu suất thu hồi của sản phẩm. Bên cạnh đó, khi nhiệt độ sấy tăng làm tăng quá trình mất ẩm, đồng thời kích thích sự biến tính và đông tụ protein, giảm khả năng giữ nước của mô thịt, làm co rút cơ nên góp phần làm tăng độ cứng của sản phẩm. Từ bảng 7 có thể thấy, sản phẩm có chất lượng cảm quan cao nhất khi sấy ở nhiệt độ 60°C ($19,3 \pm 0,60$ điểm), với cấu trúc săn chắc, dẻo dai và màu sắc

đẹp. Ở 50°C, sản phẩm có cấu trúc kém săn chắc, trong khi ở nhiệt độ 70°C và 80°C, sản phẩm trở nên cứng hơn.

Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến màu sắc của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được thể hiện trong bảng 8.

Bảng 8 cho thấy, nhiệt độ sấy có tác động đáng kể đến màu sắc của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm ($p < 0,05$). Khi nhiệt độ sấy tăng từ 50°C lên 80°C, các giá trị L^* , a^* và b^* đều giảm. Điều này có thể được giải thích do nhiệt độ cao cùng với sự có mặt của oxy trong không khí có thể đẩy nhanh quá trình oxy hóa các hợp chất carotenoids trong tôm. Khi oxy hóa xảy ra mạnh hơn, các hợp chất màu carotenoids bị biến đổi và phân hủy, làm giảm giá trị a^* , b^* [17]. Bên cạnh đó, khi nhiệt độ sấy tăng, tốc độ làm khô cũng tăng do sự khuếch tán ẩm diễn ra nhanh hơn, làm giảm độ ẩm dẫn đến màu sắc sản phẩm sậm hơn nên giá trị L^* giảm [18].

Bảng 8. Màu sắc của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm theo nhiệt độ sấy khác nhau

Nhiệt độ sấy (°C)	L^*	a^*	b^*
50	$54,8 \pm 0,4^a$	$23,2 \pm 0,9^a$	$23,8 \pm 0,26^a$
60	$54,1 \pm 0,5^{ab}$	$22,4 \pm 0,9^a$	$22,1 \pm 0,93^b$
70	$53,3 \pm 0,7^b$	$21,8 \pm 0,8^a$	$21,7 \pm 0,65^b$
80	$50,1 \pm 0,9^c$	$19,8 \pm 0,6^b$	$20,6 \pm 0,38^c$
Giá trị p	0,000	0,004	0,001

Ghi chú: Tương tự bảng 2.

Bảng 7 và 8 cho thấy, nghiệm thức có nhiệt độ sấy 60°C đạt chất lượng cảm quan tốt nhất ($19,3 \pm 0,60$ điểm). Ở nhiệt độ sấy này sản phẩm có độ ẩm ($32,8 \pm 0,89\%$), hiệu suất thu hồi $21,4 \pm 0,988\%$, độ cứng $15,9 \pm 0,203$ kg, có màu sắc đẹp và a_w ($0,744 \pm 0,009$) thích hợp nên được chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 9. Độ ẩm, a_w , cảm quan và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm theo thời gian bảo quản lạnh

Thời gian (tuần)	Độ ẩm (%)	a_w	Độ cứng (kg)	ĐTBCTL
0	$32,3 \pm 0,68^c$	$0,744 \pm 0,009^c$	$15,2 \pm 0,312^a$	$19,1 \pm 0,70^a$
1	$33,1 \pm 0,68^c$	$0,759 \pm 0,003^b$	$14,9 \pm 0,203^a$	$18,8 \pm 0,51^a$
2	$33,9 \pm 1,63^{bc}$	$0,767 \pm 0,005^b$	$14,2 \pm 0,737^a$	$18,2 \pm 0,44^{ab}$
3	$35,4 \pm 1,01^{ab}$	$0,782 \pm 0,007^a$	$13,1 \pm 0,613^b$	$17,6 \pm 0,72^b$
4	$35,9 \pm 0,87^a$	$0,791 \pm 0,006^a$	$12,5 \pm 0,889^b$	$17,3 \pm 0,44^b$
Giá trị p	0,008	0,000	0,001	0,015

Ghi chú: Tương tự bảng 2. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến chất lượng tôm khô thể chân trắng xẻ bướm

Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến độ ẩm, a_w , cảm quan và độ cứng của sản phẩm tôm khô thể chân trắng xẻ bướm được trình bày trong bảng 9.

Bảng 9 cho thấy, thời gian bảo quản lạnh có ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng sản phẩm ($p < 0,05$). Khi thời gian bảo quản kéo dài từ tuần 0 đến tuần 4, độ ẩm và a_w của sản phẩm có xu hướng tăng tương ứng từ $32,3 \pm 0,68\%$ và $0,744 \pm 0,009$ lên $35,9 \pm 0,87\%$ và $0,791 \pm 0,006$, tuy nhiên độ cứng của sản phẩm lại giảm từ $15,2 \pm 0,312$ kg xuống còn $12,5 \pm 0,889$ kg. Nguyên nhân của hiện tượng này có thể là do sản phẩm hút ẩm trong quá trình bảo quản, làm tăng độ ẩm và a_w , khi sản phẩm hút ẩm làm cấu trúc mềm mại hơn nên độ cứng giảm. Mức độ hút ẩm phụ thuộc vào phương thức đóng gói, độ ẩm môi trường xung quanh và tính chất

của sản phẩm [18]. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy sản phẩm có điểm số cao nhất ngay sau khi sấy (tuần 0) với $19,1 \pm 0,70$ điểm. Tuy nhiên, khi thời gian bảo quản tăng đến tuần 4 thì cảm quan giảm còn $17,3 \pm 0,44$ điểm, có thể do sự gia tăng độ ẩm dẫn đến giảm độ cứng, làm cho cấu trúc sản phẩm trở nên kém săn chắc, màu sắc sản phẩm sậm hơn, mất mùi vị đặc trưng của sản phẩm nên điểm cảm quan giảm dần.

Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến màu sắc và tổng số vi khuẩn hiếu khí của sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm được trình bày ở bảng 10.

Bảng 10. Màu sắc và tổng số vi khuẩn hiếu khí của sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm theo thời gian bảo quản lạnh

Thời gian (tuần)	L^*	a^*	b^*	Tổng số vi khuẩn hiếu khí (CFU /g)
0	$53,8 \pm 0,7^a$	$22,0 \pm 0,5^a$	$21,9 \pm 0,28^a$	$7,9 \times 10^2$
1	$53,2 \pm 0,3^a$	$21,9 \pm 0,8^a$	$21,6 \pm 0,21^{ab}$	$1,3 \times 10^3$
2	$52,9 \pm 0,8^a$	$21,6 \pm 0,5^{ab}$	$21,4 \pm 0,57^{ab}$	$2,5 \times 10^3$
3	$51,2 \pm 0,8^b$	$20,7 \pm 0,4^{bc}$	$20,8 \pm 0,44^{bc}$	$4,9 \times 10^3$
4	$50,1 \pm 0,6^b$	$20,3 \pm 0,2^c$	$20,4 \pm 0,55^c$	$5,7 \times 10^3$
Giá trị p	0,001	0,008	0,012	

Ghi chú: Tương tự bảng 2. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 10 cho thấy, thời gian bảo quản lạnh ảnh hưởng đáng kể đến màu sắc (L^* , a^* , b^*) cũng như tổng số vi khuẩn hiếu khí trong sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm ($p < 0,05$). Giá trị L^* , a^* và b^* giảm tương ứng từ $53,8 \pm 0,7$; $22,0 \pm 0,5$ và $21,9 \pm 0,28$ xuống còn $50,1 \pm 0,6$; $20,3 \pm 0,2$ và $20,4 \pm 0,55$ khi thời gian bảo quản tăng từ tuần 0 đến tuần 4. Sự suy giảm này có thể do quá trình oxy hóa carotenoids, vì các liên kết đôi trong phân tử của hợp chất này rất nhạy cảm với ánh sáng và nhiệt độ. Khi có sự hiện diện của ion kim loại, độ ẩm và oxy không khí, phản ứng oxy hóa diễn ra mạnh mẽ, tạo ra H_2O_2 - một hợp chất có khả năng làm mất màu carotenoids, dẫn đến giảm giá trị a^* , b^* của sản phẩm [17]. Giá trị L^* giảm dần theo thời gian bảo quản do phản ứng Maillard vẫn có thể xảy ra ở điều kiện nhiệt độ thấp với tốc độ rất chậm, dẫn đến tạo ra các hợp chất có màu nâu hoặc vàng sậm, làm sản phẩm đổi màu theo thời gian. Bên cạnh đó, chất béo có thể bị oxy hóa, sinh ra các hợp chất gây đổi màu (vàng nâu) hoặc có

thể xảy ra hiện tượng bị biến tính hoặc oxy hóa màu của của lớp bột theo thời gian nên màu sắc đậm hơn [13].

Bên cạnh đó, tổng số vi khuẩn hiếu khí trong sản phẩm tăng nhẹ từ $7,9 \times 10^2$ CFU/g lên $5,7 \times 10^3$ CFU/g khi thời gian bảo quản tăng từ tuần 0 đến tuần 4. Nguyên nhân có thể do sản phẩm hấp thụ một lượng ẩm nhỏ trong quá trình bảo quản, tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật phát triển [18]. Ngoài ra, thời gian bảo quản càng lâu, vi khuẩn hiếu khí có thể dần thích nghi với điều kiện môi trường và tiếp tục phát triển, dẫn đến số lượng vi khuẩn gia tăng theo thời gian [19]. Tổng số vi khuẩn hiếu khí là $5,7 \times 10^3$ CFU/g ở tuần thứ 4, thấp hơn giá trị tối đa cho phép (5×10^4 CFU/g) theo TCVN 6175-1:2017 [20] về thủy sản khô tẩm gia vị ăn liền. Kết quả phân tích cho thấy, sản phẩm được đóng gói bằng bao bì PA vẫn giữ được chất lượng ổn định trong suốt 4 tuần bảo quản ở nhiệt độ lạnh ($0 - 4^\circ\text{C}$).

Thành phần hóa học của sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm, bao gồm độ ẩm, protein, lipid và khoáng, được trình bày trong bảng 11.

Bảng 11. Thành phần hóa học cơ bản của sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm

Thành phần (%)	Giá trị
Độ ẩm	32,8 ± 0,89
Protein	48,7 ± 1,15
Lipid	2,16 ± 0,68
Khoáng	1,12 ± 0,53
a_w	0,744 ± 0,009

Ghi chú: Số liệu thống kê được mô tả dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

Bảng 11 cho thấy, sản phẩm có khả năng bảo quản tốt với $a_w = 0,744 \pm 0,009$. Ngoài ra, độ ẩm của sản phẩm đạt $32,8 \pm 0,89\%$ cho sản phẩm săn chắc, dai và vẫn giữ được độ mềm mại của tôm. Bên cạnh đó, sản phẩm tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm có hàm lượng dinh dưỡng cao, đặc biệt là hàm lượng protein đạt $48,7 \pm 1,15\%$. Trong khi đó, hàm lượng lipid và khoáng ở mức thấp, lần lượt là $2,16 \pm 0,68\%$ và $1,12 \pm 0,53\%$.

4. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật rào cản trong chế biến tôm khô thẻ chân trắng xẻ bướm gồm các bước chính như sau: Ngâm thắm thẩu tôm với nồng độ glycerol là 15% và NaCl 5%, nhiệt độ tâm tôm trong quá trình hấp là $80 \pm 1^\circ\text{C}$, nhiệt độ sấy tôm là 60°C . Sản phẩm vẫn đảm bảo an toàn vi sinh và ổn định chất lượng cảm quan sau thời gian bảo quản 4 tuần trong bao bì PA ở nhiệt độ lạnh ($0 - 4^\circ\text{C}$). Đây là cơ sở khoa học để từng bước ứng dụng vào thực tiễn tại doanh nghiệp, nhằm đa dạng hóa sản phẩm tôm thẻ chân trắng trong sản xuất, bảo quản, chế biến và thương mại hóa sản phẩm chế biến từ đối tượng này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tổng cục Thống kê (2024). *Niên giám thống kê Việt Nam năm 2024*. Nxb Thống kê.
2. Sriket, P., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Kijroongrojana, K. (2007). Comparative studies on chemical composition and thermal properties of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white

shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. *Food Chemistry*, 103(4), 1199 - 1207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.039>.

3. Trần Thị Mộng Thắm (2014). *Ứng dụng kỹ thuật rào cản trong chế biến tôm khô ăn liền có độ ẩm cao*. Luận văn tốt nghiệp cao học, ngành Công nghệ thực phẩm, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

4. Kanatt, S. R., Chawla, S. P., Chander, R. & Bongirwar, D. R. (2002). Shelf-stable and safe intermediate moisture (IM) meat products using hurdle technology. *Journal of Food Protection*, 65(10), 1628 - 1631.

5. Leistner, L. & Gorris, L. G. (1995). Food preservation by hurdle technology. *Trends in Food Science & Technology*, 6(2), 41 - 46.

6. AOAC (2016). *The Official Methods of Analysis of AOAC International*. George W. Latimer, Jr (Eds), Volume I.

7. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5165:1990. Sản phẩm thực phẩm - Phương pháp xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí.

8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm cảm quan - Phương pháp cho điểm.

9. Nguyen, P. M. (2019). Application of edible coating to prolong shelf life of dried white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Plant Archives*, 19(2), 237 - 240.

10. Nguyễn Văn Mười, Trần Thanh Trúc (2008). Ảnh hưởng của việc bổ sung các thành phần chất tan đến độ hoạt động của nước trong khô cá sặc rằn (*Trichogaster pectoralis regan*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 10, 151 - 160.

11. Matusek, A. & Merész, P. (2002). Modelling of sugar transfer during osmotic dehydration of carrots. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 46(1), 83 - 92.

12. Mori, K., Nishimura, T., Yasukawa, T. & Takahashi, K. (2001). Tenderization of heated sliced beef by succinylated glycerol monostearate, a novel meat tenderizer. *Journal of Food Science*, 66(4), 524 - 529. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04596.x>

13. Martins S, Jongen W, V. B. M. (2001). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 364 - 373.
14. Simatos, D. & Multon, J. L. (2012). *Properties of water in foods: in Relation to quality and stability*. Springer Science & Business Media.
15. Jay, J. M., Loessner, M. J. & Golden, D. A. (2005). Modern food microbiology. In *Annals of Microbiology* (7th ed.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/bf03174975>
16. Niamnuy, C., Devahastin, S. & Soponronnarit, S. (2007). Quality changes of shrimp during boiling in salt solution. *Journal of Food Science*, 72(5), S289 - S297. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00349.x>
17. Nguyễn Văn Mười, Nguyễn Ngọc Thùy Dương, Trần Thanh Trúc (2014). Xác định điều kiện sấy thích hợp cho chế biến và bảo quản bột thịt đầu tôm sú. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 1, 22 - 30. <https://doi.org/https://ctujsvn.ctu.edu.vn/index.php/ctujsvn/article/view/1801>.
18. Nguyễn Trọng Cẩn, Đỗ Minh Phụng (1990). *Công nghệ chế biến thực phẩm thủy sản tập II-Chế biến nước mắm, chế biến khô, thức ăn chín*. Nxb Nông nghiệp - Hà Nội.
19. Trương Thị Mộng Thu, Lê Thị Minh Thủy (2020). Nghiên cứu thủy phân protein từ thịt cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng enzyme thương phẩm và ứng dụng chế biến bột nêm. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 56(3B), 160 - 167.
20. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6175-1:2017. Thủy sản khô tẩm gia vị ăn liền - Phần 1: Cá, mực khô.

STUDY ON HURDLE TECHNIC IN PROCESSING DRIED BUTTERFLY SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

Truong Thi Mong Thu¹, Le Thi Minh Thuy¹, Tran Thanh Truc²

¹ College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University

² Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

Abstract

The study on applying hurdle technology in processing butterfly-cut dried whiteleg shrimp focuses on combining heat treatment with glycerol and NaCl supplementation to reduce the product's water activity (a_w). Four experiments were conducted: (i) the effect of glycerol and NaCl ratios, (ii) the shrimp core temperature during steaming, (iii) drying temperature, (iv) cold storage time on the product quality. The results showed that the suitable soaking solution was 15% glycerol and 5% NaCl, with a shrimp core temperature of $80 \pm 1^\circ\text{C}$, followed by drying at 60°C . Under these conditions, the final product had good sensory (19.3 ± 0.60 points), a moisture content of $32.8 \pm 0.89\%$, an a_w of 0.744 ± 0.009 , a hardness of 15.9 ± 0.203 kg, yield of $21.4 \pm 0.988\%$ and beautiful color. The product remained microbiologically safe and sensory quality during four weeks of refrigerated storage ($0 - 4^\circ\text{C}$) in PA packaging.

Keywords: *Drying, hurdle technology, NaCl and glycerol, water activity, white leg shrimp.*

Ngày nhận bài: 20/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 16/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 22/7/2025

Ngày duyệt đăng: 6/8/2025

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CANXI XITRAT CÓ ĐỘ TINH KHIẾT CAO TỪ VỎ TRỨNG GIA CẦM

Nguyễn Hải Vân¹, Phyo Ei Ei Kyaw¹, Nguyễn Thị Phương Thảo¹, Phan Thanh Tâm^{1, *}

¹ Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội

* Email: tam.phanthanh@hust.edu.vn

TÓM TẮT

Canxi là nguồn khoáng chất quan trọng của cơ thể, trong đó canxi xitrat là một loại canxi dễ được cơ thể hấp thu. Việc tìm kiếm các nguồn canxi tự nhiên, ví dụ như từ vỏ trứng, được xem là một hướng phát triển bền vững. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích xác định các thông số của quá trình sản xuất canxi xitrat có độ tinh khiết cao từ vỏ trứng gia cầm. Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát các thông số của hai quá trình sản xuất canxi xitrat từ vỏ trứng: (+) Phương pháp trực tiếp: Cho axit citric phản ứng với CaCO_3 tách chiết từ vỏ trứng; (+) Phương pháp gián tiếp: Cho axit axetic phản ứng với CaCO_3 để thu muối canxi axetat, sau đó cho muối này phản ứng với axit citric để tạo canxi xitrat. Với phương pháp trực tiếp, bột vỏ trứng được hòa tan trong dung dịch axit citric với tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch axit citric: 1/25; nồng độ axit citric 8,4% (21 g); nhiệt độ phản ứng 40°C và thời gian phản ứng 4 giờ, sấy chế phẩm: 70°C/5 giờ. Chế phẩm canxi xitrat thu được từ phương pháp gián tiếp đạt độ tinh khiết 93,12% $\pm$ 1,68, hiệu suất thu hồi 71,78% $\pm$ 1,29. Với phương pháp gián tiếp, bột vỏ trứng được chiết trong dung dịch axit axetic 12% với tỷ lệ 1: 15 (w/v), ở 30°C và thời gian phản ứng là 3 giờ. Dịch này tiếp tục đem phản ứng với axit citric dư 9,4% so với lý thuyết, ở 60°C, 4 giờ. Muối canxi thu được đem sấy ở 80°C trong 5 giờ. Chế phẩm canxi xitrat từ vỏ trứng gia cầm theo quy trình trên thu được chế phẩm có độ tinh khiết cao đạt > 98% và hiệu suất thu hồi là 82,62%, đáp ứng một số các chỉ tiêu theo QCVN 4-9:2010/BYT, cao hơn so với phương pháp gián tiếp. Nghiên cứu chứng minh tiềm năng của việc khai thác phế liệu vỏ trứng trong việc sản xuất canxi hữu cơ nhằm giảm thiểu ô nhiễm môi trường cũng như cung cấp nhu cầu canxi cho con người.

Từ khoá: Canxi xitrat, vỏ trứng, độ tinh khiết, canxi axetat.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Canxi là một nguyên tố thiết yếu, đóng vai trò quan trọng trong khả năng hình thành và phát triển của xương và răng cũng như các chức năng bình thường khác của cơ thể. Nhu cầu canxi hàng ngày là rất lớn, đặc biệt ở trẻ em, phụ nữ mang thai và người cao tuổi [1]. Hiện nay, việc bổ sung canxi từ các nguồn thực phẩm như sữa và các sản phẩm sữa, rau cải... là một cách phù hợp để đáp ứng nhu cầu canxi. Tuy vậy, mọi người thường không tiêu thụ đủ canxi từ các nguồn thực phẩm theo hướng dẫn lâm sàng. Hơn nữa, ở những khu vực như châu Á, nơi có số lượng người mắc chứng không dung nạp lactose lớn, điều quan trọng là phải tìm ra các nguồn canxi mới có thể giúp đáp ứng nhu cầu canxi trong chế độ ăn uống [2]. Chính vì vậy,

cần đòi hỏi sự bổ sung canxi từ các nguồn thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm khác. Canxi hữu cơ được nhiều chuyên gia y tế khuyên dùng vì chúng có độ sinh khả dụng cao, giúp tăng khả năng hấp thụ của cơ thể. Ngoài ra, canxi hữu cơ dễ đào thải ra ngoài nếu bị dư thừa, ít lắng cặn nên giảm nguy cơ sỏi thận, các bệnh về tim mạch. Trong số các hợp chất canxi được sử dụng, canxi xitrat ($\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$) được đánh giá cao nhờ khả năng hấp thụ tốt và ít gây tác dụng phụ [3].

Việc tìm kiếm các nguồn nguyên liệu tái tạo và có chi phí thấp để sản xuất canxi xitrat là một hướng đi đầy tiềm năng. Vỏ trứng gà, một phụ phẩm nông nghiệp phổ biến, chứa hàm lượng canxi cacbonat (CaCO_3) rất cao và đã được chứng minh có khả năng được sử dụng để sản xuất các

hợp chất canxi khác nhau. Hàng tấn vỏ trứng bị vứt bỏ mỗi ngày, nằm trong bãi rác thải tạo ra khí mê-tan - một loại khí nhà kính mạnh gây ra hiện tượng nóng lên toàn cầu [4]. Do đó, tận dụng vỏ trứng không chỉ giúp giảm thiểu lượng chất thải ra môi trường, mà còn tạo ra một sản phẩm có giá trị kinh tế và ứng dụng cao.

Quy trình sản xuất canxi xitrat từ vỏ trứng vẫn còn gặp nhiều thách thức, đặc biệt là trong việc tối ưu hóa các điều kiện phản ứng để đạt được độ tinh khiết cao và hiệu suất thu hồi tốt. Các nghiên cứu trước đây đã khảo sát ảnh hưởng của nhiều yếu tố đến quá trình này, bao gồm loại axit sử dụng, nồng độ axit, nhiệt độ, thời gian phản ứng và các phương pháp tách. Hiện có hai phương pháp sản xuất canxi xitrat từ vỏ trứng phổ biến nhất đang được tiến hành: (+) Phương pháp trực tiếp: Cho axit citric phản ứng với CaCO_3 ; (+) Phương pháp gián tiếp: Cho axit axetic phản ứng với CaCO_3 để thu muối canxi axetat, sau đó cho muối này phản ứng với axit mạnh hơn là axit citric để tạo canxi xitrat. Li và cs (2012) đã nung vỏ trứng ở nhiệt độ cao để CaCO_3 phân hủy hoàn toàn thành CaO , sau đó thêm axit citric để phản ứng tạo canxi xitrat. Kết quả cho thấy, trong các điều kiện phản ứng tối ưu: Liều lượng nước 50 mL, nồng độ axit citric là 1 mol/L, lượng axit citric 35 mL, nhiệt độ phản ứng 70°C , độ tinh khiết canxi xitrat đạt được là $87,84\% \pm 0,51\%$ [5]. Lin và cs (2023) nghiên cứu chế độ chiết tách canxi xitrat từ vỏ hàu [6], bột vỏ hàu được hòa tan trong axit axetic 1M, thể tích của dung dịch này gấp 40 lần thể tích của bột vỏ và bột được đun nóng đến 90°C . Sau đó, bột vỏ được lọc. Axit citric được thêm vào dung dịch canxi axetat đã hòa tan và để lắng trong 12 giờ. Canxi xitrat kết tủa được lọc, rửa hai lần bằng nước khử ion, sấy ở 50°C . Tại chế độ này, canxi cacbonat được chuyển đổi thành canxi xitrat với độ tinh khiết tương đương khoảng 98% [6].

Tuy nhiên, một số yếu tố vẫn chưa được nghiên cứu một cách đầy đủ, đặc biệt là sự ảnh hưởng của thể tích dung môi, hàm lượng axit citric, thời gian phản ứng, nhiệt độ sấy chế phẩm... Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định thông số

công nghệ sản xuất canxi xitrat từ vỏ trứng bằng phương pháp gián tiếp và trực tiếp bao gồm tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch axit, nồng độ axit sử dụng, nhiệt độ và thời gian phản ứng, nhiệt độ sấy chế phẩm. Các kết quả thu được sẽ đưa ra được quy trình xử lý vỏ trứng để thu được canxi xitrat có độ tinh khiết cao, góp phần nâng cao giá trị gia tăng của nguồn phụ phẩm này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vỏ trứng gà sau ấp nở được thu gom từ Trung tâm Nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương (Hà Nội) - Viện Chăn nuôi - Bộ Nông nghiệp và Môi trường. Vỏ trứng được thu gom theo ngày, chưa qua quá trình xử lý, gần như còn nguyên vẹn, độ ẩm $< 3\%$.

2.2. Bố trí thí nghiệm

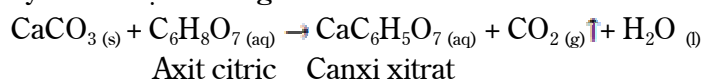
2.2.1. Chuẩn bị bột CaCO_3 tinh khiết tách chiết từ vỏ trứng

Vỏ trứng gà ấp nở sau khi thu thập từ trại giống được vận chuyển đến phòng thí nghiệm tại Khoa Kỹ thuật Thực phẩm, Trường Hóa và Khoa học Sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội. Vỏ trứng được rửa với nước theo tỷ lệ vỏ trứng/nước là 3: 1 ở nhiệt độ phòng để loại bỏ cặn bẩn vật lý bám ở bề mặt vỏ trứng. Vỏ trứng sau đó được đem đi tiệt trùng ở 121°C trong 60 phút để diệt khuẩn. Vỏ trứng vô trùng được tách màng theo các thông số đã đề cập trong nghiên cứu [7]. Sau đó, chúng được nghiền nhỏ và rây qua lưới 250 mesh để thu được bột CaCO_3 có độ tinh khiết cao từ vỏ trứng. Bột CaCO_3 đã chuẩn bị sau đó được sử dụng làm nguyên liệu đầu vào để tổng hợp canxi xitrat.

2.2.2. Quy trình sản xuất canxi xitrat bằng phương pháp trực tiếp

Cơ sở lý thuyết của phản ứng:

Cho từ từ 10 g bột vỏ trứng vào dung dịch axit citric (18 - 27 g), ở tỷ lệ rắn: Lỏng khác nhau (1: 15 - 1: 25), nhiệt độ ($40 - 60^\circ\text{C}$) và khoảng thời gian (4 - 6 giờ), khuấy nhẹ. Sau phản ứng, dung dịch chứa canxi xitrat sẽ được ly tâm ở tốc độ 3.500 vòng/phút trong 10 phút, rửa, sấy khô ($60 - 80^\circ\text{C}$) và nghiền thành bột mịn [8].

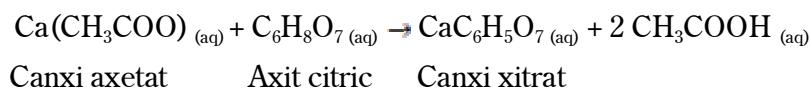
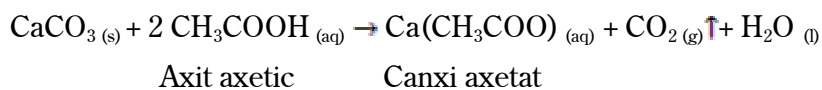


Các yếu tố khảo sát bao gồm:

- Tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch axit: 1/15, 1/20 và 1/25.
- Nồng độ axit citric: 18 g, 21 g, 24 g, 27 g.
- Nhiệt độ phản ứng: 40, 50 và 60°C.
- Thời gian phản ứng: 4, 5 và 6 giờ.
- Nhiệt độ sấy chế phẩm: 60, 70, 80°C.

2.2.3. Quy trình sản xuất canxi xitrat bằng phương pháp gián tiếp

Cơ sở lý thuyết của phản ứng: Lấy 10 g bột vỏ trứng, bổ sung từ từ dung dịch axit acetic, phản ứng trong bể ổn nhiệt, có khuấy. Dung dịch thu



+ Nội dung khảo sát quá trình sản xuất canxi axetat:

- Nồng độ acetic: 8%; 9%; 10%; 11%; 12%; 13%; 14%.
- Nhiệt độ phản ứng: 30°C; 40°C; 50°C.
- Tỷ lệ vỏ trứng và dung dịch axit: 1: 9; 1: 12; 1: 15; 1: 18.
- Thời gian phản ứng: 1,5 giờ; 2 giờ; 2,5 giờ; 3 giờ; 3,5 giờ.

+ Nội dung khảo sát quá trình sản xuất canxi xitrat:

- Thông số phản ứng:
- + Nhiệt độ phản ứng: 40°C, 50°C, 60°C, 70°C
- + Thời gian phản ứng: 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ
- + Lượng axit citric: 14 g, 15 g, 16 g, 17 g (tương ứng với lượng axit dư so với lý thuyết là 0; 7,14; 14,30; 21,43%).
- Thu hồi canxi xitrat
- + Số lần ly tâm - rửa: 1, 2, 3, 4 lần.
- + Nhiệt độ sấy chế phẩm: 60°C, 70°C, 80°C.

Đánh giá hiệu quả quá trình phản ứng và thu hồi canxi xitrat thông qua các chỉ tiêu: Hàm lượng ion canxi, độ tinh khiết chế phẩm, hiệu suất thu hồi.

được sau khi phản ứng kết thúc được đem đi ly tâm ở điều kiện 3.500 vòng/phút trong 15 phút. Sau ly tâm, thu lấy phần dịch trong lọc qua giấy lọc 20 - 25 µm và giấy lọc Whatman No. 1 (đường kính 11 µm). Dịch trong sau lọc đem phản ứng với axit citric, nhiệt độ phản ứng được kiểm soát trong bể ổn nhiệt, có khuấy. Kết thúc phản ứng thu được muối kết tinh và phần dung dịch axit acetic. Hỗn hợp đem ly tâm 10 phút, 3.500 vòng/phút thu canxi xitrat dưới đáy. Rửa muối nhiều lần loại bỏ axit dư, cô đặc rồi đem sấy khô thu được chế phẩm canxi xitrat [9].

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định độ ẩm

Độ ẩm của nguyên liệu và chế phẩm thu nhận được được xác định theo TCVN 10788:2015 [10].

2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng ion canxi

Hàm lượng canxi trong mẫu chế phẩm được xác định bằng phương pháp chuẩn độ EDTA theo TCVN 6198:1996 [11].

2.3.3. Xác định hiệu suất thu hồi và độ tinh khiết của các chế phẩm canxi xitrat

- Độ tinh khiết của chế phẩm canxi xitrat được tính theo công thức:

$$\text{Độ tinh khiết}_{\text{canxixitrat}} = \frac{C_{\text{canxixitrat}}}{m} \times 100 \%$$

Trong đó: $C_{\text{canxi xitrat}}$ là khối lượng canxi xitrat thực tế có trong chế phẩm (g); m là khối lượng chất khô chế phẩm canxi xitrat (g)

- Hiệu suất thu hồi của chế phẩm canxi xitrat được tính theo công thức:

$$H = \frac{m}{m_0} \times \text{Độ tinh khiết}_{\text{ca}} \times 100\%$$

Trong đó: m là khối lượng muối canxi xitrat thu được (g); m_0 là khối lượng muối canxi xitrat tính theo phương trình phản ứng lý thuyết (g)

2.3.4. Phương pháp đánh giá chất lượng chế phẩm canxi xitrat

Chất lượng chế phẩm canxi xitrat được đánh giá theo QCVN 4-9:2010/BYT [12] bao gồm các tiêu chí: Cảm quan (bột mịn màu trắng, không mùi), độ tan (rất ít tan trong nước, không tan trong ethanol), độ ẩm (không thấp hơn 10,0% và không được quá 14,0%), hàm lượng $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ không thấp hơn 97,5% tính theo chế phẩm đã làm khô.

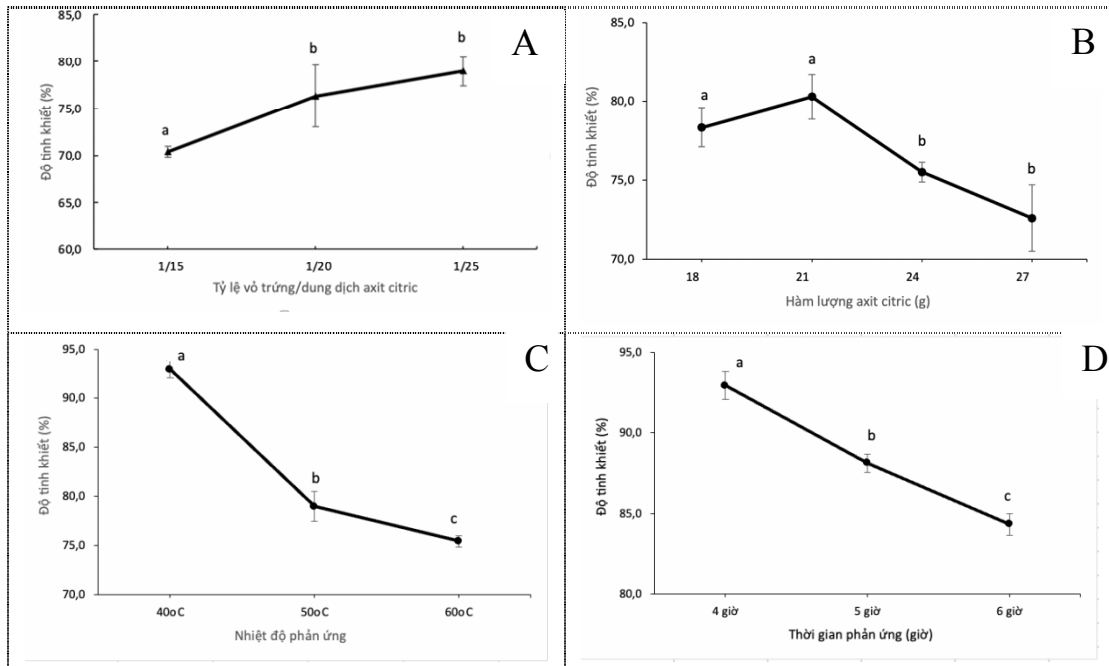
2.3.5. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần để lấy giá trị trung bình. Các số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS18, phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Tuckey, mức ý nghĩa $p = 0,05$ được sử dụng để so sánh giá trị trung bình sự khác biệt.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thông số công nghệ quá trình sản xuất canxi xitrat bằng phương pháp trực tiếp

Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch, nồng độ axit citric, nhiệt độ và thời gian của phản ứng chiết tách canxi xitrat bằng phương pháp trực tiếp. Các kết quả được thể hiện ở hình 1. Khi tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch tăng từ 1/15 đến 1/25 thì độ tinh khiết tăng từ $70,41 \pm 0,58\%$ đến $79,0 \pm 1,55\%$. Đối với dãy nồng độ axit citric khảo sát (18 - 27 g), độ tinh khiết cao nhất (79,0%) đạt được khi xử lý ở nồng độ axit là 21 g. Với nhiệt độ phản ứng, độ tinh khiết đạt giá trị cao nhất (92,93%) ở nhiệt độ thấp (40°C), sau đó giảm dần khi nhiệt độ tăng lên, đạt mức thấp nhất (75,44%) ở 60°C . Hình 1 cũng cho thấy độ tinh khiết giảm khi thời gian phản ứng tăng lên. Độ tinh khiết cao nhất (92,93%) đạt được sau 4 giờ phản ứng, sau đó giảm xuống 88,11% ở 5 giờ và 84,32% ở 6 giờ.



Hình 1. Ảnh hưởng của các thông số công nghệ đến phản ứng chiết tách canxi xitrat bằng phương pháp trực tiếp. (A) tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch, (B) nồng độ axit citric, (C) nhiệt độ và (D) thời gian

Sự gia tăng độ tinh khiết khi tăng thể tích phản ứng có thể do lượng nước cất lớn hơn giúp tăng cường hiệu quả phản ứng, đồng thời cũng giúp cho việc rửa kết tủa được dễ dàng hơn, loại bỏ các axit dư và các tạp chất tan trong nước [9]. Hàm lượng axit citric trong phản ứng dư có thể làm giảm pH môi trường, gây ảnh hưởng đến quá trình

kết tủa canxi xitrat, hoặc ức chế quá trình kết hợp canxi với ion xitrat. Nhiệt độ phản ứng là yếu tố động học quan trọng, ảnh hưởng đến nhiều khía cạnh của phản ứng hóa học, bao gồm tốc độ phản ứng, cân bằng hóa học và sự tương tác giữa các chất phản ứng [13]. Trong các nghiên cứu trước đây về sản xuất canxi xitrat từ vỏ trứng, phạm vi

hiệt độ phản ứng tối ưu thường được báo cáo trong khoảng 50 - 80°C, cao hơn so với nghiên cứu này [13]. Ở nhiệt độ thấp hơn, quá trình kết tinh canxi xitrat có thể diễn ra từ từ hơn, cho phép các tạp chất có thời gian hòa tan vào dung dịch và dễ dàng loại bỏ trong quá trình tách chiết và làm sạch. Ngược lại, nhiệt độ quá cao (trên 80°C) có thể làm tăng các phản ứng phụ, gây phân hủy canxi xitrat và làm giảm độ tinh khiết của sản phẩm. Việc kéo dài thời gian phản ứng không chỉ làm tăng chi phí sản xuất mà còn có thể gây khó khăn trong việc kiểm soát quá trình.

Như vậy, quá trình sản xuất canxi xitrat bằng phương pháp trực tiếp được tiến hành với tỷ lệ vỏ trứng/dung dịch là 1/25, dung dịch axit citric có nồng độ 8,4%, 40°C, thời gian phản ứng 4 giờ, độ tinh khiết sản phẩm cao nhất đạt $92,93 \pm 0,86\%$. Độ tinh khiết của chế phẩm thu được ở nghiên cứu này cao hơn với nghiên cứu trước của Li và cs (2012) nhưng thông số phản ứng có sự khác biệt đôi chút, đã nung vỏ trứng ở nhiệt độ cao để CaCO_3 phân hủy hoàn toàn thành CaO, sau đó thêm axit citric để phản ứng tạo canxi xitrat. Kết quả cho thấy, trong các điều kiện phản ứng tối ưu: liều lượng nước 50 mL, nồng độ axit citric là 1 mol/L, lượng axit citric 35 mL, nhiệt độ phản ứng 70°C, sản lượng canxi xitrat là $84,36\% \pm 0,48\%$ và độ tinh khiết $87,84\% \pm 0,51\%$ [5]. Như vậy, với phương pháp trực tiếp tuy quy trình không phức tạp nhưng độ tinh khiết chưa đáp ứng được yêu cầu QCVN 4-9:2010/BYT [12]. Điều này có thể được lý giải do canxi xitrat tạo thành ở dạng kết tủa không tan sẽ phần nào tác động làm giảm sự hòa tan của bột vỏ trứng làm giảm hiệu suất thu hồi và độ tinh khiết, vì vậy, cần giải pháp công nghệ mới với quy trình sản xuất canxi xitrat bằng phương pháp gián tiếp nhằm khắc phục hạn chế của phương pháp trực tiếp.

3.2. Thông số công nghệ quá trình sản xuất canxi xitrat bằng phương pháp gián tiếp

Trong nghiên cứu này, canxi xitrat được sản xuất bằng cách sử dụng axit axetic để phản ứng trước với canxi cacbonat trong vỏ trứng tạo canxi axetat sau đó sử dụng axit citric phản ứng với canxi axetat để tạo ra canxi xitrat. Cho từ từ 10 g bột vỏ trứng phản ứng với dung dịch axit axetic trong bể ổn nhiệt. Khi bắt đầu phản ứng có hiện

tượng sủi bọt khí (CO_2), khí thoát ra chậm do sức căng bề mặt của dung dịch vì vậy cần hỗ trợ của cánh khuấy trong quá trình phản ứng. Sau khi kết thúc phản ứng, thu dịch, ly tâm lấy phần dịch trong, cô đặc ở 100°C đến khi hình thành muối canxi axetat và sấy muối.

3.2.1. Thông số công nghệ quá trình sản xuất canxi axetat

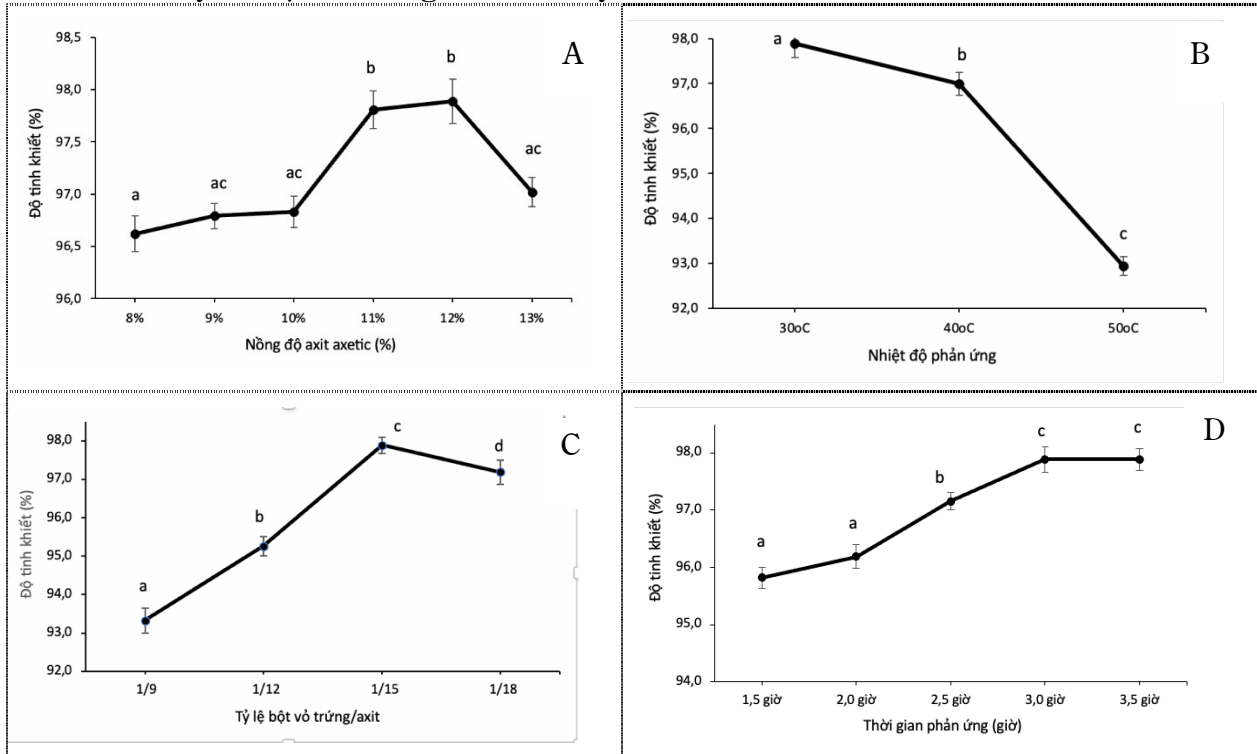
Kết quả về việc khảo sát các thông số công nghệ được giới thiệu ở hình 2. Kết quả hình 2A cho thấy, tại nồng độ axit 12% thu được chế phẩm có độ tinh khiết cao nhất 97,89%. Trong 3 nhiệt độ khảo sát (30, 40, 50°C) thì phản ứng ở 30°C thu được muối có độ tinh khiết cao nhất (97,89%). Tại nhiệt độ 40°C và 50°C, độ tinh khiết của chế phẩm canxi axetat đều thấp hơn so với nhiệt độ 30°C, có thể do ở axit axetic có hiện tượng bay hơi nhẹ ở nhiệt độ cao (Hình 2B). Nghiên cứu tiến hành thay đổi tỉ lệ bột vỏ trứng và dung dịch axit axetic lần lượt là 1/9; 1/12; 1/15; 1/18. Độ tinh khiết tăng nhanh khi tỷ lệ bột vỏ trứng và dung dịch axit axetic tăng và đạt cao nhất tại 1/15 (97,89%), sau đó giảm dần. Tỷ lệ rắn-lỏng quá thấp sẽ dẫn đến phản ứng không hoàn toàn giữa vỏ trứng và axit axetic (Hình 2C). Kết quả khảo sát thời gian phản ứng cho thấy, thời gian tăng thì độ tinh khiết muối tăng, trong thời gian 3 giờ đạt độ tinh khiết cao nhất (Hình 2D). Như vậy, thông số của quá trình sản xuất canxi axetat bao gồm nồng độ axit 12%, nhiệt độ phản ứng 30°C; tỉ lệ bột vỏ trứng và dung dịch axit axetic là 1/15; thời gian phản ứng 3 giờ.

Kết quả này phù hợp với kết quả của các nghiên cứu trước [9, 13]. Yao và cs (2022) báo cáo rằng nồng độ axit cho hiệu suất thu hồi cao nhất là gấp 1,59 lần so với lý thuyết, tương đương 12% [13]. Xi và Mei-Hu (2010) tối ưu hóa quá trình chuyển đổi canxi cacbonat trong vỏ trứng thành canxi xitrat. Các điều kiện này bao gồm tăng 30% hỗn hợp vỏ trứng, tỷ lệ rắn-lỏng là 1: 19,8, phản ứng của bột vỏ trứng với axit axetic ở 25,4°C trong 3,5 giờ, sau đó là phản ứng tiếp theo của canxi axetic với axit citric ở 50°C trong 3 giờ. Nồng độ axit citric giảm 25,4% so với điều kiện tiêu chuẩn. Tại điều kiện này, canxi xitrat đạt hiệu suất 86,2%. Sau khi tinh chế, năng suất đạt 85,4% và mức độ tinh khiết lớn hơn 99% [9].

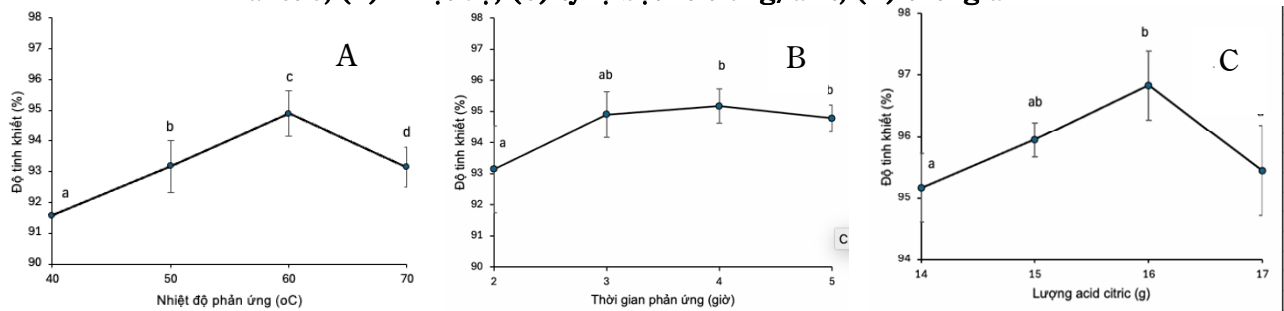
3.2.2. Thông số công nghệ quá trình sản xuất canxi xitrat từ canxi axetat

Khi cho axit citric dạng tinh thể ngậm nước vào dung dịch canxi acetat, axit citric tan hoàn toàn và dần dần có hiện tượng kết tinh muối trắng làm đục dung dịch, do muối sẽ bị lắng nên cần hỗ trợ của cánh khuấy để hiệu suất tăng lên. Điều này

khá phù hợp với kết quả sản xuất canxi xitrat có hỗ trợ siêu âm với các thông số tối ưu như siêu âm trong 22 phút, phản ứng 37 phút ở nhiệt độ 61,2°C với tỷ lệ rắn: lỏng 1: 30, phần trăm khối lượng của axit citric là 1: 1,6. Trong điều kiện này, hiệu suất canxi xitrat từ vỏ trứng có thể đạt $79,29\% \pm 1,67\%$ [11].



Hình 2. Ảnh hưởng của các thông số công nghệ đến quá trình sản xuất canxi axetat. (A) nồng độ axit axetic, (B) nhiệt độ, (C) tỷ lệ bột vỏ trứng/axit, (D) thời gian



Hình 3. Ảnh hưởng của các thông số công nghệ đến phản ứng chiết tách canxi xitrat bằng phương pháp gián tiếp (A) nhiệt độ, (B) thời gian, (C) lượng axit citric

Tại nhiệt độ phản ứng thấp (40°C và 50°C), độ tinh khiết của chế phẩm canxi xitrat thấp hơn so với 60°C do phản ứng kết tinh xitrat ở nhiệt độ thấp diễn ra chậm, chưa hoàn toàn chuyển hóa hết canxi vào dạng xitrat và kích thước tinh thể chưa hoàn thiện nên khi ly tâm rửa khó loại sạch tạp chất và axit dư. Ở nhiệt độ cao hơn (70°C), độ tinh khiết của chế phẩm giảm đi (Hình 3A). Nguyên

nhân có thể do sự xuất hiện các tạp chất hình thành ở nhiệt độ cao bị tinh thể muối giữ lại, hiện tượng bay hơi nước diễn ra nhanh. Kết quả cho thấy, độ tinh khiết của chế phẩm canxi xitrat tại nhiệt độ phản ứng 60°C là cao nhất 94,89%. Thêm vào đó, khảo sát thời gian phản ứng cho thấy độ tinh khiết sau 2 và 3 giờ phản ứng thấp hơn so với 4 giờ do phản ứng vẫn chưa kết thúc, độ tinh khiết

cũng thấp do tinh thể chưa hoàn thiện (Hình 3B). Sau 5 giờ phản ứng, hiệu suất thu hồi thấp hơn 4 giờ có thể do thời gian dài làm tăng liên kết với lượng rất nhỏ tạp chất còn sót lại dẫn tới độ tinh khiết giảm đi ít nhiều. Khi tăng lượng axit citric phản ứng thì độ tinh khiết tăng (Hình 3C), tuy nhiên khi tăng quá nhiều axit citric đến 17 g (dư

21,43%), có thể xuất hiện quá trình tái hòa tan muối xitrat trong axit citric dư, làm giảm lượng muối thu được. Kết quả chỉ ra rằng, độ tinh khiết của canxi xitrat ở phản ứng với 16 g axit citric là cao nhất $96,835 \pm 0,556$, nên chọn lượng axit citric là 16 g (dư 14,3% so với lý thuyết) cho quy trình sản xuất.



Hình 4. Mẫu canxi xitrat sau các giờ phản ứng khác nhau

Như vậy, các thông số của điều kiện phản ứng gồm nhiệt độ phản ứng 60°C , thời gian phản ứng 4 giờ, lượng axit phản ứng 16 g (dư 14,3% so với lý thuyết).

3.2.3. Thông số công nghệ quá trình thu hồi canxi xitrat từ canxi axetat

Quá trình rửa chế phẩm nhằm loại bỏ axit citric dư và axit acetic thu hồi ra khỏi muối canxi

xitrat, từ đó làm tăng độ tinh khiết của muối. Khi tăng số lần rửa, hiệu suất thu hồi giảm đi thất thoát muối trôi theo nước rửa sau quá trình ly tâm. Kết quả cho thấy, chế phẩm canxi xitrat ly tâm - rửa 3 lần cho độ tinh khiết cao nhất là $98,498 \pm 0,440\%$ và hiệu suất thu hồi là $82,620 \pm 1,307\%$ (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả khảo sát số lần rửa - ly tâm chế phẩm

Số lần rửa - ly tâm	Khối lượng muối canxi xitrat thu được (g)	Hàm lượng canxi (%)	Độ tinh khiết của canxi xitrat (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
1 lần	$14,051 \pm 0,028^a$	$23,333 \pm 0,134^a$	$96,835 \pm 0,556^a$	$83,230 \pm 0,316^a$
2 lần	$13,928 \pm 0,062^b$	$23,461 \pm 0,053^a$	$97,366 \pm 0,220^a$	$82,956 \pm 0,552^a$
3 lần	$13,712 \pm 0,156^c$	$23,734 \pm 0,106^b$	$98,498 \pm 0,440^b$	$82,620 \pm 1,307^{ab}$
4 lần	$13,426 \pm 0,211^c$	$23,671 \pm 0,211^{ab}$	$98,235 \pm 0,179^b$	$80,677 \pm 1,215^b$

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$).

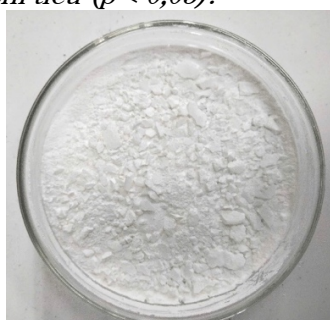
Chế phẩm thu được sau khi rửa ly tâm được đem sấy ở các nhiệt độ khác nhau nhằm đảm bảo đạt độ ẩm yêu cầu bảo quản và thời gian sấy ngắn nhất tránh tiêu hao quá nhiều nhiên liệu của quá trình sản xuất. Kết quả bảng 2 cho thấy, thời gian sấy và độ ẩm mẫu giảm dần khi nhiệt độ tăng dần. Độ ẩm chế phẩm khi sấy ở các nhiệt độ khác nhau cũng khác nhau. Cụ thể, độ ẩm của mẫu sấy ở

60°C , 70°C và 80°C lần lượt là 11%, 4,88% và 4,16%. Chế phẩm sau sấy có màu trắng, dễ nghiền thành dạng bột mịn. Nghiên cứu chọn chế độ sấy 80°C trong 5 giờ. Do canxi xitrat dễ hút ẩm nên sau khi bảo quản trong túi zip lấy ra kiểm tra độ ẩm thì độ ẩm có tăng lên (12,2%) nhưng vẫn nằm trong khoảng yêu cầu độ ẩm từ 10 - 14% theo QCVN 4-9: 2010/BYT [12].

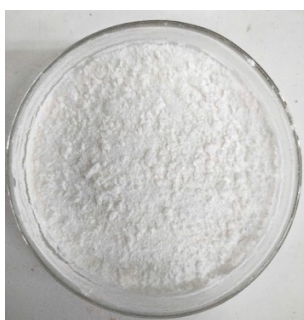
Bảng 2. Kết quả khảo sát chế độ sấy canxi xitrat

Nhiệt độ (°C) Thời gian (giờ)	60°C		70°C		80°C	
	Khối lượng chế phẩm (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng chế phẩm (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng chế phẩm (g)	Độ ẩm (%)
1 giờ	41,41 ± 1,37 ^a	31,60 ± 0,82 ^A	41,73 ± 1,20 ^a	31,94 ± 0,48 ^A	41,05 ± 1,80 ^a	30,36 ± 1,16 ^A
2 giờ	36,08 ± 1,30 ^a	27,27 ± 0,62 ^A	36,31 ± 1,54 ^a	26,52 ± 0,12 ^B	32,65 ± 1,53 ^b	21,95 ± 0,88 ^C
3 giờ	31,61 ± 0,59 ^a	23,80 ± 0,46 ^A	30,81 ± 1,77 ^a	21,03 ± 0,52 ^B	22,32 ± 1,58 ^b	11,62 ± 0,93 ^C
4 giờ	25,16 ± 1,75 ^a	20,35 ± 1,15 ^A	25,18 ± 1,39 ^a	15,39 ± 0,20 ^B	15,80 ± 1,30 ^b	5,11 ± 0,65 ^C
5 giờ	21,73 ± 1,24 ^a	17,92 ± 0,78 ^A	20,83 ± 1,8 ^a	11,04 ± 0,82 ^B	14,86 ± 1,45 ^b	4,16 ± 0,80 ^C
6 giờ	18,96 ± 1,60 ^a	15,15 ± 1,15 ^A	16,17 ± 0,91 ^b	6,39 ± 0,78 ^B	-	-
7 giờ	15,89 ± 1,64 ^a	12,08 ± 1,21 ^A	14,67 ± 1,06 ^a	4,88 ± 0,73 ^B	-	-
8 giờ	14,81 ± 1,49	11,00 ± 1,09	-	-	-	-

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có nghĩa trên cùng một chỉ tiêu ($p < 0,05$).



A



B



C

Hình 5. Chế phẩm canxi xitrat ở nhiệt độ sấy khác nhau (A) 60°C, (B) 70°C và (C) 80°C

Chế phẩm sau sấy có dạng bột mịn màu trắng, không mùi, rất ít tan trong nước, không tan trong ethanol. Hàm lượng canxi xitrat đạt 98,498% (> 97,5%) và độ ẩm 12,2%, đáp ứng QCVN 4-9: 2010/BYT [12]. Như vậy, phương pháp gián tiếp đem lại chế phẩm có độ tinh khiết cao đạt > 98% và hiệu suất thu hồi là 82,620 ± 1,307%, cao hơn phương pháp trực tiếp.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được các thông số của quá trình chiết và thu hồi canxi xitrat từ vỏ trứng gia cầm bằng phương pháp trực tiếp và gián tiếp. Với phương pháp trực tiếp, bột vỏ trứng được hòa tan trong dung dịch axit citric với tỷ lệ vỏ trứng/

dung dịch axit citric: 1/25; nồng độ axit citric 8,4%; nhiệt độ phản ứng 40°C và thời gian phản ứng 4 giờ, muối canxi xitrat thu được được rửa và ly tâm 4 lần, sau đó được sấy ở 70°C/5 giờ. Chế phẩm canxi xitrat thu được từ phương pháp trực tiếp đạt độ tinh khiết 93,12% ± 1,68, hiệu suất thu hồi 71,78% ± 1,29. Với phương pháp gián tiếp, bột vỏ trứng được chiết trong dung dịch axit axetic 12% với tỷ lệ 1: 15 (w/v), ở 30°C và thời gian phản ứng là 3 giờ. Chế phẩm canxi xitrat từ vỏ trứng gia cầm theo quy trình gián tiếp trên thu được chế phẩm có độ tinh khiết cao đạt > 98% và hiệu suất thu hồi là 82,62%, đáp ứng một số các chỉ tiêu theo QCVN 4-9:2010/BYT. Nghiên cứu chứng minh khả năng ứng dụng thực tiễn của việc chuyển giao công

nghe với các nhà máy thu gom xử lý phế liệu vỏ trứng, cũng như tiềm năng trong việc sản xuất canxi hữu cơ nhằm giảm thiểu ô nhiễm môi trường cũng như cung cấp nhu cầu canxi cho con người.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ, đề tài mã số KC.07.01/21-30.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (2023). <https://www.niams.nih.gov/vi/health-topics/calcium-and-vitamin-d-important-bone-health>
2. Flammini, L., Martuzzi, F., Vivo, V., Ghirri, A., Salomi, E., Bignetti, E. & Barocelli, E. (2016). Hake fish bone as a calcium source for efficient bone mineralization. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(3), 265 - 273. <https://doi.org/10.3109/09637486.2016.1150434>.
3. Straub, D. A. (2007). Calcium supplementation in clinical practice: A review of forms, doses, and indications. *Nutrition in Clinical Practice*, 22(3), 286 - 296.
4. Waheed, M., Butt, M. S., Shehzad, A., Adzahan, N. M., Shabbir, M. A., Rasul Suleria, H. A. & Aadil, R. M. (2019). Eggshell calcium: A cheap alternative to expensive supplements. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 219 - 230. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.021>.
5. Li, F., Ma, M., Zhang, W. & Bin, D. (2012). Study on the transformation of calcium carbonate into calcium citrate from eggshell. *Science and Technology of Food Industry*, 192 - 199. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2013.05.062>.
6. Lin, H. T. V., Chen, G. W., Chang, K. L. B., Bo, Y. J. & Sung, W. C. (2023). Comparison of Physicochemical properties of noodles fortified with commercial calcium salts versus calcium citrate from oyster shells. *Foods*, 12(14). <https://doi.org/10.3390/foods12142696>.
7. Phan Thanh Tam, Nguyen Thi Thuy & Nguyen Hai Van. (2024). Research on Eggshell Membrane Separation for High-Purity Calcium Carbonate (CaCO₃) Recovery. *JST: Engineering and Technology for Sustainable Development*, 34(4), 1 - 8. <https://doi.org/10.51316/jst.177.etsd.2024.34.4.1>.
8. Rovinaru, C., Pasarin, D., & Matei, C. (2020). *Optimization of conditions for production of calcium citrate from egg shells*. 18. <https://doi.org/10.3390/proceedings2020057018>.
9. Xi, Z., & Mei-Hu, M. A. (2010). Technologic research on transforming calcium carbonate in eggshell to calcium citrate. *Scientia Agricultura Sinica*, 43(5), 1031 - 1040. <https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2010.05.019>.
10. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10788:2015. Malt - xác định độ ẩm - phương pháp khối lượng.
11. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6198:1996 về chất lượng nước - xác định hàm lượng can xi - phương pháp chuẩn độ EDTA.
12. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 4-9:2010/BYT về phụ gia thực phẩm - chất làm rắn chắc.
13. Yao, Y., Shi, Y., An, P., Zhang, R., Wang, Z., Hu, X., & Wan, Y. (2022). Optimization of preparation of calcium propionate from eggshell by Response Surface Methodology (RSM). *Food Science and Technology (Brazil)*, 42(1 - 2), 1 - 10. <https://doi.org/10.1590/fst.25322>
14. Quan, Q. Y., Ming L. H, Yonghuan L. W., & Miao F. B. (2016) Optimization on the Preparation of calcium citrate from eggshells with eesponse surface methodology. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 30(1), 79 - 85. <https://doi.org/10.11869/j.issn.100-8551.2016.01.0079>

**RESEARCH ON HIGH-PURITY CALCIUM CITRATE PRODUCTION TECHNOLOGY
FROM POULTRY EGGSHELLS****Nguyen Hai Van¹, Phyo Ei Ei Kyaw¹,****Nguyen Thi Phuong Thao¹, Phan Thanh Tam¹***¹ School of Chemistry and Life Sciences, Hanoi University of Science and Technology***Abstract**

This study was conducted to determine the parameters for the production process of high-purity calcium citrate from poultry eggshells. The research examined two methods for producing calcium citrate from eggshells, including (i) direct method: Citric acid reacts with calcium carbonate (CaCO_3) extracted from eggshells, (ii) indirect method: Acetic acid reacts with CaCO_3 to obtain calcium acetate, which then reacts with citric acid to form calcium citrate. In the direct method, eggshell powder was dissolved in a citric acid solution at a 1: 25 ratio, with a citric acid concentration of 8.4%, at 40°C for 4 hours, followed by drying at 70°C for 5 hours. The calcium citrate product from this method achieved a purity of $93.12\% \pm 1.68$, with a recovery yield of $71.78\% \pm 1.29$. In the indirect method, eggshell powder was extracted in a 12% acetic acid solution with a 1: 15 (w/v) ratio at 30°C for 3 hours. The resulting solution was then reacted with excess citric acid (9.4% above theoretical) at 60°C for 4 hours. The obtained calcium salt was dried at 80°C for 5 hours. This process produced calcium citrate with a purity of over 98%, with a recovery rate of 82.62%, meeting the requirements of QCVN 4-9:2010/BYT and surpassing the results of the direct method. The findings highlight the potential of utilizing eggshell waste for organic calcium production, contributing to environmental sustainability while meeting human calcium needs.

Keywords: *Calcium citrate, eggshell, purity, calcium acetate.***Ngày nhận bài:** 15/6/2025**Ngày chuyển phản biện:** 10/7/2025**Ngày thông qua phản biện:** 20/7/2025**Ngày duyệt đăng:** 31/7/2025

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC ÉP HỖN HỢP ỔI (*Psidium guajava* L.) – DỨA (*Ananas comosus*) THANH TRÙNG BỔ SUNG COLLAGEN THỦY PHÂN TỪ DA CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Trương Thị Mộng Thu¹, Lê Thị Minh Thủy^{1,*}

¹Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ

* Email: ltmthuy@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tạo sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi – dứa thanh trùng bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra đáp ứng các tiêu chí về dinh dưỡng, cảm quan và an toàn thực phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, phối trộn nước ép ổi và nước ép dứa với tỷ lệ 4/6 cho sản phẩm có màu sắc đẹp và điểm cảm quan cao nhất là 18,00 điểm. Tỷ lệ collagen thủy phân bổ sung vào hỗn hợp nước ép là 2% cho sản phẩm có hoạt tính chống oxy hóa và điểm cảm quan cao lần lượt là 43,58% và 17,56 điểm. Khi thanh trùng sản phẩm nước ép hỗn hợp ở 95°C trong 10 phút thì sản phẩm có điểm cảm quan cao là 18,00 điểm và tổng vi sinh vật hiếu khí thấp là $4,09 \times 10^1$ (CFU/mL). Sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi – dứa đóng chai thanh trùng bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra được bảo quản lạnh từ 0 - 4°C trong 4 tuần vẫn duy trì được chất lượng cảm quan, màu sắc sản phẩm, hoạt tính chống oxy hóa tốt và tổng vi sinh vật hiếu khí nằm trong giới hạn cho phép, đảm bảo an toàn cho người tiêu dùng. Kết quả cho thấy, tiềm năng ứng dụng collagen thủy phân trong phát triển thực phẩm chức năng hướng đến sức khỏe và làm đẹp.

Từ khóa: Collagen thủy phân, hoạt tính chống oxy hóa, nước ép hỗn hợp ổi – dứa, thanh trùng, bảo quản.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, ngành đồ uống chức năng chiếm khoảng 12,5% thị phần toàn cầu. Trong đó, nước ép trái cây là lựa chọn phù hợp để phát triển thực phẩm chức năng nhờ giá trị dinh dưỡng cao và lợi ích sức khỏe [1]. Trong đó, trái dứa (*Ananas comosus*) có vị chua ngọt, giúp giải khát, hỗ trợ tiêu hóa và cung cấp nhiều vitamin A, C có lợi cho sức khỏe [2]. Tương tự, trái ổi (*Psidium guajava* L.) với hương vị thơm ngọt, giàu vitamin C, kali, chất xơ và chất chống oxy hóa, giúp tăng cường hệ miễn dịch [3].

Bên cạnh đó, phụ phẩm từ chế biến thủy sản như: Da, vây, vảy là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất collagen nhờ tính an toàn, nguy cơ truyền bệnh thấp,.... Collagen thủy phân là sản phẩm thu từ quá trình thủy phân gelatin bằng enzyme, chứa đầy đủ axit amin thiết yếu, đặc biệt

hàm lượng glycine và proline cao gấp khoảng 20 lần so với các thực phẩm giàu protein khác. Nhờ khả năng hòa tan tốt, collagen thủy phân thường được bổ sung vào nước ép trái cây để tăng giá trị dinh dưỡng và hỗ trợ tiêu hóa [4]. Vì vậy, Bilek và Bayram (2015) [4] nghiên cứu bổ sung collagen thủy phân vào nước ép cam, táo và nho trắng; Verkhivker và cs (2021) [5] nghiên cứu bổ sung collagen có nguồn gốc khác nhau vào các sản phẩm nước ép từ trái cây và rau củ; Dharmayanti và cs (2025) [6] đã nghiên cứu bổ sung collagen từ phế liệu da cá ngừ và ứng dụng vào đồ uống trà mật ong cam chanh. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu bổ sung collagen thủy phân vào nước ép trái cây nhiệt đới ở Việt Nam. Do đó, nghiên cứu công nghệ sản xuất nước ép hỗn hợp ổi (*Psidium guajava* L.) – dứa (*Ananas comosus*) thanh trùng bổ sung collagen thủy phân từ da cá

tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là cần thiết nhằm tạo sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa thanh trùng, bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra, đáp ứng các tiêu chí về dinh dưỡng, cảm quan và an toàn thực phẩm phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Da cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) được thu tại Công ty Thủy sản Biển Đông (Khu Công nghiệp Trà Nóc II, thành phố Cần Thơ).

Ổi lè (*Psidium guajava* L.) (3 - 4 trái/1 kg) và dứa (*Ananas comosus*) Cầu Đúc (1 trái/1 kg) được thu mua tại chợ Tân An. Ổi và dứa được lựa chọn kỹ, màu sắc tươi tốt, không bị hư, không có dấu hiệu dập úng, đảm bảo về độ an toàn thực phẩm.

Nước đường (Syrup đường mía xanh) được sản xuất tại Công ty Cổ phần Vagrico và được mua tại Bách hóa Xanh (phường Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ) có độ ngọt 6,7°Brix và pH 6,8. Vitamin C (axit ascorbic) dạng bột được mua tại Công ty Cổ phần Hóa chất miền Nam (Phường Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ).

2.2. Chuẩn bị nguyên vật liệu

Chuẩn bị nước ép ổi: Ổi được rửa sạch với nước muối pha loãng, bỏ cuống, bỏ hạt, để nguyên vỏ, cắt thành những miếng nhỏ và ép bằng máy ép trái cây để thu nước ép ổi. Nước ép ổi có độ ngọt là 8,0 - 10,0°Brix và pH 2,0 - 3,0. Nước ép được giữ ở nhiệt độ lạnh từ 0 - 4°C và sử dụng trong 24 giờ.

Chuẩn bị nước ép dứa: Dứa gọt sạch vỏ, bỏ mắt, rửa sạch, cắt thành các miếng nhỏ và được ép bằng máy ép trái cây thu nước ép dứa. Nước ép dứa có độ ngọt là 10,0 - 12,0°Brix và pH 3,0 - 4,0. Nước ép được giữ ở nhiệt độ lạnh từ 0 - 4°C và sử dụng trong 24 giờ.

Chuẩn bị collagen thủy phân từ da cá tra: Da cá khi chuyển về phòng thí nghiệm và tiến hành xử lý: Dùng dao cạo sạch phần thịt, mỡ còn sót lại và ngâm da vào nước đá để loại bớt mỡ, rửa lại bằng nước sạch. Sau đó da được để ráo nước và cắt nhỏ với kích thước 1,5 - 2,5 cm. Quy trình sản xuất collagen thủy phân từ da cá tra được tham khảo theo phương pháp thủy phân bằng enzyme Thermoase GL30 của Lê Thị Minh Thủy và

Nguyễn Văn Thom (2019) [7] với một số điều chỉnh cho phù hợp. Đầu tiên, da cá được tiền xử lý để loại nitor phi protein và loại lipid bằng cách ngâm NaOH 0,1 M trong 1 giờ với tỉ lệ da: dung dịch NaOH là 1: 8 (w/v), sau đó ngâm Butanol 10% trong 24 giờ với tỉ lệ da: dung dịch Butanol là 1: 8 (w/v). Da cá sau khi tiền xử lý được nấu chiết gelatin với tỉ lệ da: nước là 1: 7 (w/v) ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Sau khi nấu chiết tiến hành lọc bỏ bã, ly tâm tốc độ 4.000 vòng/phút ở 20°C trong 20 phút và lạnh đông tan giá trong 6 - 7 giờ, sau đó sấy ở 60°C trong 12 giờ, nghiền mịn thu được bột gelatin. Tiếp theo gelatin được hòa tan trong nước cất với tỉ lệ gelatin: nước là 1: 25 (w/v) khuấy ở 60°C và tiến hành thủy phân bằng enzyme Thermoase GL30 với nồng độ 0,3% ở 60°C trong 1 giờ. Sau khi thủy phân, tiến hành bất hoạt enzyme ở 95°C trong 5 phút, ly tâm với tốc độ 4.000 vòng/phút ở 20°C trong 15 phút. Sau đó cấp đông dung dịch trong 12 giờ và sấy đông khô trong 48 giờ thu được bột collagen thủy phân. Sản phẩm collagen thủy phân từ da cá tra có hoạt tính chống oxy hóa (DPPH), độ nhớt và độ sáng lần lượt là 76,5%, 19,4 mPa.s và L^* là 95,9.

2.3. Phương pháp thí nghiệm

2.3.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn nước ép ổi và nước ép dứa đến chất lượng sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Thí nghiệm được tiến hành với 1 nhân tố A: tỷ lệ nước ép ổi/nước ép dứa (A1: 6/4, A2: 5/5, A3: 4/6), gồm 3 nghiệm thức, số lần lặp lại là 3, tổng số mẫu thí nghiệm là 9 mẫu. Lượng nước ép cho mỗi mẫu thí nghiệm là 100 mL. Hai loại nước ép được chuẩn bị như mục 2.2 được tiến hành phối trộn với tỷ lệ nước ép ổi/nước ép như bố trí thí nghiệm. Phụ gia bổ sung cố định là 5% nước đường; 0,2% vitamin C, sau khi nước ép được phối trộn và bổ sung phụ gia được lọc qua màng lọc để loại bỏ bã cặn, rót chai thủy tinh (100 mL) và thanh trùng ở nhiệt độ 95°C trong vòng 10 phút theo Nguyễn Thị Thu Hồng và cs (2019) [8]. Sản phẩm được đánh giá cảm quan (màu sắc, mùi, vị, trạng thái), đo độ ngọt (°Brix), pH và màu sắc (L^* , a^* , b^*) từ đó chọn ra tỷ lệ phối trộn phù hợp cho sản phẩm đạt chất lượng tốt nhất.

2.3.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của tỷ lệ collagen thủy phân từ da cá tra bổ sung đến chất lượng sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Thí nghiệm được thực hiện thông qua 1 nhân tố B: tỷ lệ collagen thủy phân (B0: 0%; B1: 1%, B2: 2%, B3: 3%), 4 nghiệm thức, số lần lặp lại là 3, tổng số mẫu là 12. Lượng nước ép cho mỗi mẫu thí nghiệm là 100 mL. Nước ép hỗn hợp ổi - dứa đã được chuẩn bị như thí nghiệm 1, sau đó nước ép được phối trộn collagen thủy phân với tỷ lệ khác nhau như bố trí thí nghiệm [9]. Sau khi bổ sung collagen thủy phân tiến hành khuấy đều cho đến khi collagen hòa tan hoàn toàn vào trong nước ép trái cây, rót chai thủy tinh (thể tích là 100 mL) và thanh trùng ở nhiệt độ 95°C trong 10 phút theo Nguyễn Thị Thu Hồng và cs (2019) [8]. Sản phẩm được đánh giá cảm quan (màu sắc, mùi, vị, trạng thái), phân tích hoạt tính chống oxy hóa, đo màu sắc (L^* , a^* , b^*) từ đó chọn ra tỷ lệ phối trộn collagen thủy phân thích hợp nhất.

2.3.3. Thí nghiệm 3: Nghiên cứu thời gian thanh trùng ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa đóng chai bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Thí nghiệm được thực hiện thông qua 1 nhân tố C: thời gian thanh trùng (C1: 5 phút, C2: 10 phút, C3: 15 phút), 3 nghiệm thức, số lần lặp lại là 3, tổng số mẫu là 9. Lượng nước ép cho mỗi mẫu thí nghiệm là 100 mL. Mẫu nước ép hỗn hợp ổi - dứa được phối trộn collagen thủy phân với tỷ lệ phù hợp được chọn từ 2 thí nghiệm, sau đó thanh trùng ở nhiệt độ 95°C với 3 mốc thời gian khác nhau như bố trí thí nghiệm. Sau khi thanh trùng sản phẩm được tiến hành phân tích tổng vi sinh vật hiếu khí, màu sắc (L^* , a^* , b^*), đo pH và đánh giá cảm quan (màu sắc, mùi, vị, trạng thái), từ đó chọn ra thời gian thanh trùng thích hợp nhất.

2.3.4. Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến sự thay đổi chất lượng sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa đóng chai bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Thí nghiệm thực hiện thông qua 1 nhân tố D: thời gian bảo quản (D0: 0 tuần, D1: 1 tuần, D2: 2 tuần, D3: 3 tuần, D4: 4 tuần), 5 nghiệm thức, số lần lặp lại là 3, tổng số mẫu là 15. Lượng nước ép cho

mỗi mẫu thí nghiệm là 100 mL. Nước ép hỗn hợp ổi - dứa được thanh trùng ở nhiệt độ 95°C với thời gian được chọn từ thí nghiệm 3 và bảo quản lạnh ở nhiệt độ từ 0 - 4°C trong thời gian 4 tuần. Mỗi tuần lấy mẫu đánh giá cảm quan (màu sắc, mùi, vị, trạng thái), đo pH, màu sắc (L^* , a^* , b^*), phân tích tổng vi sinh vật hiếu khí và hoạt tính chống oxy hóa để tìm được thời gian bảo quản lạnh vẫn đảm bảo chất lượng sản phẩm.

2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

2.4.1. Chỉ tiêu và phương pháp phân tích

Xác định thành phần dinh dưỡng của sản phẩm nước ép gồm: Phân tích hàm lượng ẩm (%) bằng phương pháp sấy, hàm lượng protein (%) bằng phương pháp Kjeldahl, hàm lượng khoáng (%) bằng phương pháp nung và hàm lượng vitamin C (mg/mL) bằng phương pháp chuẩn độ theo AOAC (2016) [10]. Xác định tổng vi sinh vật hiếu khí của sản phẩm nước ép bằng phương pháp đếm số khuẩn lạc trên môi trường PCA theo AOAC (2016) [10], giới hạn cho phép theo QCVN 6-2:2010/BYT [11]. Đo pH của mẫu nước ép bằng máy đo pH để bàn Consort C1020P (Bỉ). Đo độ ngọt (°Brix) của mẫu nước ép bằng máy đo độ ngọt (°Brix) cầm tay Atago Automatic Master-53T (Nhật Bản).

Đo màu sắc (L^* , a^* , b^*): Mẫu nước ép được rót vào cốc nhựa và tiến hành đo màu bằng thiết bị PCE-CSM 2 (Trung Quốc) với hệ màu CIE bằng đèn D65. Các giá trị L^* (màu đen đến màu trắng), a^* (màu đỏ đến màu xanh lá cây) và b^* (màu vàng đến màu xanh da trời) [9].

Xác định hoạt tính chống oxy hóa theo phương pháp DPPH: hút 1,5 ml hỗn hợp dung dịch nước ép đã được bổ sung collagen thủy phân vào ống nghiệm, tiếp theo lắc đều, ủ tối trong 30 phút và xác định bằng phương pháp quang phổ ở bước sóng 517 nm theo mô tả của Wu và cs (2003) [12] với một số điều chỉnh phù hợp. Hoạt tính chống oxy hóa tính theo công thức: DPPH (%)

$$= \frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \times 100 \text{ với } A_{\text{blank}} \text{ là mẫu đối}$$

chứng, A_{sample} là mẫu nước ép với DPPH.

Kiểm tra chỉ tiêu cảm quan của nước ép theo TCVN 3215-79 [13], hội đồng đánh giá cảm quan

gồm 5 thành viên. Cảm quan viên được yêu cầu đánh giá các chỉ tiêu bao gồm: Màu sắc, mùi, vị, trạng thái.

2.4.2. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 để tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Phân tích thống kê và đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong cùng một thí nghiệm được thực hiện bằng phần mềm SPSS 20.0, áp dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Duncan ($p <$

0,05) nhằm xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các trung bình nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước ép ổi và nước ép dứa đến chất lượng sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Tỷ lệ phối trộn giữa hai loại nước ép ổi và nước ép dứa là yếu tố ảnh hưởng đến độ ngọt ($^{\circ}$ Brix), pH và cảm quan của sản phẩm nước ép hỗn hợp trái cây. Kết quả phân tích độ ngọt ($^{\circ}$ Brix), pH và giá trị cảm quan của nước ép hỗn hợp ổi - dứa ở 3 tỷ lệ khác nhau được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn nước ép đến độ ngọt ($^{\circ}$ Brix), pH và giá trị cảm quan của nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Tỷ lệ nước ép ổi/dứa	Độ ngọt ($^{\circ}$ Brix)	pH	ĐTBCTL
6/4	$14,17 \pm 0,29^a$	$2,91 \pm 0,04^a$	$16,55 \pm 0,25^a$
5/5	$14,33 \pm 0,58^a$	$2,92 \pm 0,05^a$	$16,78 \pm 0,25^a$
4/6	$13,83 \pm 0,76^a$	$2,89 \pm 0,03^a$	$18,00 \pm 0,17^b$

Ghi chú: Các ký tự (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 1 cho thấy, tỷ lệ phối trộn nước ép ổi và nước ép dứa thấy đổi có ảnh hưởng lớn đến giá trị cảm quan của sản phẩm. Giá trị cảm quan của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa đạt cao nhất là 18,00 điểm khi phối trộn hai loại nước ép ổi và dứa ở tỷ lệ 4/6 vì sản phẩm có mùi thơm và vị chua ngọt đặc trưng của dứa, ngoài ra khi lượng nước ép dứa lớn hơn lượng nước ép ổi thì vị của sản phẩm được cải thiện, giảm vị chát của nước ép ổi và tạo vị ngọt thanh của sản phẩm nước ép ổi - dứa. Khi phối trộn hai loại nước ép ổi và dứa ở tỷ lệ 6/4 mặc dù màu sắc sản phẩm đẹp nhưng lượng nước ép ổi chiếm phần lớn nên sản phẩm có vị chát nhẹ của ổi và nước ép vón nhẹ nên điểm cảm quan sản phẩm đạt loại khá 16,55 điểm. Khi phối trộn hai loại nước ép ổi và dứa ở tỷ lệ 5/5 tuy mùi vị sản phẩm được cải thiện giảm vị chát của ổi, nhưng vẫn còn hiện tượng vón nhẹ nên điểm cảm quan là 16,78 điểm, tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê với tỷ lệ 6/4. Tuy nhiên, khi tỷ lệ nước ép

ổi/dứa thay đổi thì độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) và pH của sản phẩm khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân được lý giải là do nước ép ổi ban đầu có độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) là 8,0 - 10,0 $^{\circ}$ Brix và pH 2,0 - 3,0, nước ép dứa ban đầu có độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) là 10,0 - 12,0 $^{\circ}$ Brix và pH 3,0 - 4,0. Điều này cho thấy độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) và pH của 2 loại nước ép khác biệt không lớn nên khi phối trộn hai loại nước ép với tỷ lệ khác nhau cũng không ảnh hưởng nhiều đến độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) và pH của sản phẩm. Bên cạnh đó, độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) của sản phẩm dao động từ 13,83 - 14,17 $^{\circ}$ Brix cao hơn độ ngọt ($^{\circ}$ Brix) của 2 loại nước ép ban đầu, có thể là do bổ sung 5% nước đường trong quy trình chế biến sản phẩm nước ép hỗn hợp.

Bên cạnh đó, màu sắc của sản phẩm cũng là một yếu tố ảnh hưởng đến quyết định lựa chọn của người tiêu dùng. Kết quả màu sắc của sản phẩm khi thay đổi tỷ lệ nước ép ổi và dứa được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn nước ép đến màu sắc của nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Tỷ lệ nước ép ổi/dứa	Màu sắc		
	L^*	a^*	b^*
6/4	$28,14 \pm 3,00^a$	$-0,48 \pm 0,195^b$	$10,73 \pm 4,08^a$
5/5	$26,09 \pm 0,85^a$	$-1,49 \pm 0,623^{ab}$	$13,69 \pm 5,28^a$
4/6	$27,05 \pm 1,25^a$	$-2,16 \pm 0,640^a$	$15,99 \pm 3,08^a$

Ghi chú: Các ký tự (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 2 cho thấy, khi thay đổi tỷ lệ phối trộn giữa hai loại nước ép không làm ảnh hưởng đến giá trị L^* và b^* của sản phẩm. Tuy nhiên, giá trị a^* của sản phẩm dao động từ -0,48 đến -2,16 và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân là do trong nước ép dứa chứa nhiều carotenoid (β -carotene, lutein, zeaxanthin) thể hiện màu vàng cam, flavonoid (như quercetin, kaempferol) đặc trưng cho màu vàng nhạt hoặc không màu [2]. Bên cạnh đó, chlorophyll thể hiện sắc tố xanh lá và lycopene đặc trưng cho màu hồng đến đỏ, carotenoid thường có màu vàng đến cam là những sắc tố quyết định màu sắc của nước ép ổi [3]. Khi tiến hành phối trộn 2 loại nước ép ổi và dứa thì nước ép hỗn hợp có giá trị a^* dao động từ -0,48 xuống -2,16 (thể hiện màu vàng xanh nhạt vì giá trị b^* dao động từ 10,73 - 15,99), điều này có thể là do chlorophyll từ nước ổi (nhất là vỏ ổi) còn nhiều, enzyme và axit trong dứa tác động làm màu xanh đậm hơn và sự phối màu tự nhiên giữa vàng của dứa và xanh nhạt của ổi tạo ra nên vàng xanh nhạt. Bên cạnh đó, các sắc tố là những nhân tố rất nhạy cảm với nhiệt độ, ánh sáng, oxy, pH và độ ẩm, nên khi nước ép hỗn hợp được thanh trùng ở 95°C trong thời gian 10 phút cũng có thể làm thay đổi màu sắc của nước ép [8].

Bảng 1 và 2 cho thấy, tỷ lệ phối trộn 2 loại nước ép ổi và nước ép dứa là 4/6 được chọn là tỷ lệ

thích hợp nhất vì cho sản phẩm có chất lượng cảm quan tốt nhất và màu sắc đẹp.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ collagen thủy phân từ da cá tra bổ sung vào sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Kết quả hoạt tính chống oxy hóa, đánh giá cảm quan sản phẩm theo tỷ lệ collagen thủy phân khác nhau được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3 cho thấy, hoạt tính chống oxy hóa của nước ép có khuynh hướng tăng từ 30,91% lên 46,46% khi tỷ lệ phối trộn collagen tăng từ 0 - 3% và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nghiệm thức bổ sung 3% collagen thủy phân có hoạt tính chống oxy hóa cao nhất (46,46%) và không khác biệt có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức bổ sung 2% collagen thủy phân, tuy nhiên cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức bổ sung 1% và 0% collagen thủy phân (mẫu đối chứng). Nguyên nhân là do khả năng chống oxy hóa của các peptide phụ thuộc vào thành phần axit amine trong chuỗi peptide, các axit amine kỵ nước có khả năng thu nhận gốc hydroxyl cao hơn các axit amine ưa nước và collagen thủy phân từ da cá tra chứa một lượng lớn các axit amine kỵ nước như: Glycine, alanine, proline và methionine, do đó các peptide từ collagen thủy phân có khả năng chống oxy hóa tốt [4].

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ collagen thủy phân đến hoạt tính chống oxy hóa và điểm cảm quan của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Tỷ lệ collagen thủy phân (%)	Hoạt tính chống oxy hóa (%)	ĐTBCTL
0	$30,91 \pm 1,81^a$	$18,00 \pm 0,17^b$
1	$33,62 \pm 1,05^a$	$17,77 \pm 0,26^b$
2	$43,58 \pm 2,31^b$	$17,56 \pm 0,34^b$
3	$46,46 \pm 1,49^b$	$15,78 \pm 0,35^a$

Ghi chú: Các ký tự (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 3 cho thấy, điểm cảm quan của nước ép hỗn hợp ổi - dứa giảm từ 18,00 điểm còn 15,78 điểm khi tăng tỷ lệ bổ sung collagen thủy phân từ 0 - 3%. Khi bổ sung ở tỷ lệ 3% collagen thủy phân thì điểm cảm quan giảm xuống còn 15,78 điểm do sản phẩm xuất hiện mùi tanh nhẹ, màu sậm và nước ép bị đục. Kết quả đánh giá cảm quan này phù hợp với nghiên cứu của Trương Thị Mộng

Thu và cs (2023) [9] bổ sung collagen thủy phân vào 3 loại nước ép lựu, cà rốt và dâu tằm khi tăng tỷ lệ bổ sung collagen từ 1 - 2% và 3% thì điểm cảm quan của sản phẩm cũng có xu hướng giảm dần.

Kết quả phân tích về màu sắc sản phẩm nước ép hỗn hợp theo tỷ lệ collagen thủy phân khác nhau được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung collagen thủy phân đến màu sắc của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Tỷ lệ collagen thủy phân (%)	Màu sắc		
	L^*	a^*	b^*
0	$34,27 \pm 0,27^d$	$-5,06 \pm 0,21^d$	$27,89 \pm 0,34^c$
1	$30,03 \pm 0,77^c$	$-7,55 \pm 0,40^c$	$25,73 \pm 0,68^b$
2	$28,39 \pm 0,65^b$	$-9,22 \pm 0,88^b$	$25,03 \pm 0,76^{ab}$
3	$25,95 \pm 0,95^a$	$-11,01 \pm 0,45^a$	$23,76 \pm 1,70^a$

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 4 cho thấy, khi tăng tỷ lệ bổ sung collagen từ 0% lên 3% thì giá trị L^* giảm từ 34,27 xuống còn 25,95 vì collagen thủy phân có màu trắng đục nên khi tăng tỷ lệ collagen thủy phân làm cho sản phẩm bị sậm màu, ảnh hưởng đến độ sáng của sản phẩm dẫn đến giá trị L^* của nước ép giảm. Cùng với đó, giá trị a^* có xu hướng giảm khi bổ sung collagen thủy phân từ tỷ lệ 0% lên 3%, cụ thể là từ -5,06 xuống -11,01 và giá trị b^* có xu hướng giảm nhẹ từ 27,89 xuống còn 23,76 khi tăng tỷ lệ bổ sung collagen thủy phân từ 0 - 3% và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân có thể là do collagen thủy phân chứa các peptide có phân tử lượng nhỏ hơn 20 kDa và axit amino tự do, các axit amino này có thể tham gia phản ứng hóa nâu

không enzyme (maillard) với đường khử hoặc carbohydrate và sẽ gây ra sậm màu cho sản phẩm [14].

Bảng 3 và 4 cho thấy, tỷ lệ 2% collagen thủy phân được chọn là thích hợp nhất vì cho sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa có hoạt tính chống oxy hóa cao, màu sắc đẹp và chất lượng cảm quan cao.

3.3. Nghiên cứu thời gian thanh trùng ảnh hưởng đến chất lượng của nước ép hỗn hợp ổi - dứa đóng chai bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Kết quả tổng vi sinh vật hiếu khí, pH và đánh giá cảm quan sản phẩm theo thời gian thanh trùng được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian thanh trùng đến tổng vi sinh vật hiếu khí, pH và điểm cảm quan của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa

Thời gian thanh trùng (phút)	pH	ĐTBCTL	Tổng vi sinh vật hiếu khí (CFU/mL)
5	$2,99 \pm 0,03^a$	$18,23 \pm 0,10^b$	$9,09 \times 10^{1b}$
10	$3,01 \pm 0,02^a$	$18,00 \pm 0,34^b$	$4,09 \times 10^{1a}$
15	$3,02 \pm 0,03^a$	$16,22 \pm 0,34^a$	$3,64 \times 10^{1a}$

Ghi chú: Các ký tự (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 5 cho thấy, pH của nước khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Cùng với đó, tổng vi sinh vật hiếu khí có xu hướng giảm dần khi tăng thời gian thanh trùng, cụ thể từ $9,09 \times 10^1$ CFU/mL xuống $3,64 \times 10^1$ CFU/mL thấp hơn giới hạn tổng vi sinh vật hiếu khí tối đa cho phép theo QCVN 6-2:2010/BYT [11] là 10^5 CFU/mL và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân có thể là do bản chất của sản phẩm nước hỗn hợp ép ổi - dứa có pH thấp, tính axit cao làm cho vi khuẩn chịu nhiệt không phát triển được, bên cạnh đó chúng còn dễ dàng bị tiêu diệt khi nâng nhiệt. Ngoài ra, các vi khuẩn khác có nha bào hay không nha bào, các nấm men hay nấm mốc tuy có thể phát triển trong môi trường axit nhưng hầu hết lại kém chịu nhiệt [15]. Vì vậy, lượng vi sinh vật hiếu khí ban đầu trong sản phẩm tương đối ít cùng với việc thanh trùng ở nhiệt độ cao (95°C) trong thời gian dài càng làm giảm đi lượng vi sinh vật có trong sản phẩm nước ép.

Bảng 6. Ảnh hưởng của thời gian thanh trùng đến màu sắc của nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân

Thời gian thanh trùng (phút)	Màu sắc		
	L^*	a^*	b^*
5	$30,70 \pm 1,10^b$	$-0,42 \pm 0,093^a$	$11,05 \pm 1,70^b$
10	$27,64 \pm 1,57^a$	$0,06 \pm 0,304^a$	$10,05 \pm 0,18^{ab}$
15	$25,70 \pm 1,17^a$	$1,10 \pm 0,288^b$	$8,91 \pm 0,49^a$

Ghi chú: Các ký tự (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 6 cho thấy, giá trị L^* và b^* của nước ép có khuynh hướng giảm khi tăng thời gian thanh trùng và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đối lập với giá trị L^* và b^* , thì giá trị a^* có xu hướng tăng nhẹ khi tăng thời gian thanh trùng từ 5 phút lên 15 phút và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân có thể là do khi kéo dài thời gian thanh trùng thì các phản ứng maillard, phản ứng hóa nâu do enzyme và quá trình oxy hóa vitamin C diễn ra nhiều hơn, dẫn đến nước ép có màu sậm làm giảm giá trị L^* của sản phẩm [17]. Nghiên cứu của Nguyễn Minh Thủy và cs (2014) [18] về ảnh hưởng của áp suất và thời gian cô đặc chân không, chất chống oxy hóa và chế độ thanh trùng đến chất lượng dứa cô đặc cũng cho ra kết quả giá trị

Bảng 5 cho thấy, thời gian thanh trùng càng ngắn thì điểm cảm quan càng cao, ngược lại thời gian thanh trùng càng dài thì điểm cảm quan của sản phẩm càng giảm, cụ thể khi tăng thời gian thanh trùng từ 5 - 15 phút thì điểm cảm quan giảm từ 18,23 điểm còn 16,22 điểm và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân là do khi thanh trùng trong thời gian ngắn, sản phẩm giữ được mùi thơm tự nhiên của dứa và ổi, đồng thời vị chua ngọt hài hòa đặc trưng. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian thanh trùng, các phản ứng hóa học như Maillard và oxy hóa polyphenol và phân hủy các hợp chất hương tự nhiên diễn ra mạnh hơn, dẫn đến giảm mùi thơm tự nhiên của trái cây, sản phẩm xuất hiện mùi nấu nhẹ, vị chua đặc trưng bị giảm rõ rệt [16].

Kết quả phân tích sự thay đổi màu sắc của nước ép hỗn hợp theo thời gian thanh trùng được trình bày trong bảng 6.

L^* giảm dần từ 28,48 xuống 22,36 khi tăng thời gian thanh trùng.

Bảng 5 và 6 cho thấy, thanh trùng ở 95°C trong thời gian 10 phút thì sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra đảm bảo chất lượng cảm quan, an toàn vệ sinh thực phẩm và màu sắc đẹp.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến sự thay đổi chất lượng của nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Kết quả đo pH và hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân theo thời gian bảo quản lạnh từ $0 - 4^\circ\text{C}$ được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến pH và hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Thời gian (tuần)	pH	Hoạt tính chống oxy hóa (%)
0	2,94 ± 0,02 ^b	43,58 ± 2,31 ^c
1	2,92 ± 0,04 ^{ab}	39,43 ± 2,23 ^{bc}
2	2,91 ± 0,03 ^{ab}	37,61 ± 0,60 ^b
3	2,89 ± 0,02 ^{ab}	35,62 ± 2,47 ^b
4	2,87 ± 0,05 ^a	29,46 ± 3,10 ^a

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 7 cho thấy, sau 4 tuần bảo quản lạnh thì pH và hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm nước ép đều có sự thay đổi. Cụ thể, pH của nước ép giảm từ 2,94 xuống 2,87, điều đó cho thấy nước ép trở nên chua hơn do sự sản sinh axit lactic hoặc các axit khác trong quá trình lên men [19]. Nguyên nhân có thể là do trong thời gian bảo quản lạnh đã xảy ra quá trình lên men hoặc sự phân hủy của các chất có trong nước ép như đường (carbohydrate), enzyme và các vitamin (vitamin C, vitamin A). Quá trình này xảy ra chủ yếu do hoạt động của vi khuẩn hoặc enzyme có trong nước ép, đặc biệt khi nước ép không có chất bảo quản [20]. Tuy nhiên, do nước ép được bảo quản ở nhiệt độ

lạnh từ 0 - 4°C và kín nên pH của sản phẩm nước ép chỉ giảm nhẹ. Bên cạnh đó, hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm nước ép hỗn hợp giảm từ 43,58% xuống còn 29,46%. Điều này có thể do các vitamin và các chất quan trọng có khả năng chống oxy hóa có trong nước ép dần mất đi. Vitamin rất nhạy cảm với nhiệt độ, oxy và ánh sáng, thời gian bảo quản dài cũng làm ảnh hưởng đến hàm lượng vitamin trong sản phẩm, đặc biệt là vitamin C [18].

Kết quả đo màu sắc sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra trong suốt quá trình bảo quản lạnh, được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến màu sắc của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Thời gian (tuần)	Màu sắc		
	L^*	a^*	b^*
0	27,17 ± 0,34 ^a	0,83 ± 0,654 ^d	14,48 ± 1,86 ^b
1	26,80 ± 0,85 ^a	-0,48 ± 0,274 ^c	13,86 ± 1,71 ^{ab}
2	30,27 ± 0,99 ^{ab}	-0,83 ± 0,242 ^{bc}	12,71 ± 1,20 ^{ab}
3	32,26 ± 0,66 ^b	-1,61 ± 0,881 ^{ab}	11,27 ± 1,16 ^a
4	39,44 ± 4,02 ^c	-2,14 ± 0,166 ^a	11,02 ± 1,28 ^a

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 8 cho thấy, giá trị L^* có xu hướng tăng, tuy nhiên a^* và b^* đều có xu hướng giảm dần theo trong 4 tuần bảo quản. Đối với độ sáng L^* tăng từ 27,17 lên tới 39,44 do trong thời gian bảo quản nước ép không còn giữ được màu sắc đặc trưng cùng với độ trong của nước ép tăng nên độ sáng của nước ép tăng. Bên cạnh đó, giá trị a^* giảm dần từ 0,83 xuống -2,14 và b^* cũng giảm từ 14,48 xuống còn 11,02; có thể là do sự phá hủy của chất màu carotenoid (lycopene, xanthophylls), chlorophyll và các phản ứng hóa nâu như phản

ứng caramel, phản ứng maillard, phản ứng hóa nâu do enzyme và quá trình oxy hóa vitamin C diễn ra trong quá trình bảo quản [17]. Nghiên cứu này khác với nghiên cứu bảo quản lạnh nước ép trái cây trong 4 tuần của Trương Thị Mộng Thu và cs (2023) [9] về sản xuất nước ép giàu collagen với nồng độ collagen thủy phân là 2% vào 3 loại nước ép là: Lựu, cà rốt và dâu tằm bảo quản ở nhiệt độ lạnh trong thời gian 4 tuần, độ sáng L^* của 3 loại nước ép có xu hướng giảm dần lần lượt là nước ép lựu từ

27,5 xuống 24,6; nước ép cà rốt giảm từ 36,8 xuống 32,5 và nước ép dâu tằm giảm từ 7,52 xuống 6,12.

Kết quả đánh giá cảm quan và tổng vi sinh vật hiếu khí theo thời gian bảo quản được thể hiện ở bảng 9.

Bảng 9. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản lạnh đến điểm cảm quan và tổng vi sinh vật hiếu khí của nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân

Thời gian (tuần)	ĐTBCTL	Tổng vi sinh vật hiếu khí (CFU/mL)
0	18,05 ± 0,26 ^d	1,36 x 10 ^{1a}
1	17,89 ± 0,25 ^{cd}	2,73 x 10 ^{1a}
2	17,39 ± 0,35 ^c	5,91 x 10 ^{1b}
3	16,72 ± 0,34 ^b	1,14 x 10 ^{2c}
4	15,90 ± 0,26 ^a	2,05 x 10 ^{2d}

Ghi chú: Các ký tự (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), số liệu được biểu hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, $n = 3$. ĐTBCTL: Điểm trung bình có trọng lượng.

Bảng 9 cho thấy, điểm cảm quan của sản phẩm nước ép có xu hướng giảm dần từ 18,05 điểm ở tuần 0 nhưng qua thời gian 4 tuần điểm cảm quan của sản phẩm giảm còn 15,90 điểm. Nguyên nhân là do sự thay đổi về màu sắc, mùi vị và trạng thái của sản phẩm, độ sáng của sản phẩm không hài hòa do phản ứng Maillard và oxy hóa polyphenol làm cho nước ép có màu kém đặc trưng. Đồng thời, sự mất ổn định của các hợp chất tạo hương dễ bay hơi và quá trình oxy hóa nhẹ, dẫn đến mùi thơm của sản phẩm giảm. Ngoài ra, sự biến đổi thành phần axit hữu cơ và protein thủy phân nên xuất hiện vị chua kém hài hòa. Bên cạnh đó, trạng thái của sản phẩm không đồng nhất do hiện tượng tách pha nhẹ và kết tủa keo protein [18].

Bảng 9 cho thấy, tổng số vi sinh vật hiếu khí có xu hướng phát triển dần trong thời gian bảo quản với tuần 0 thì chỉ có 1,36x10¹ CFU/mL, bắt đầu từ tuần 1 đến tuần 4, tổng số vi sinh vật hiếu khí của sản phẩm nước ép tăng từ 2,73 x 10¹ CFU/mL lên 2,05 x 10² CFU/mL và thấp hơn giới hạn tối đa cho phép theo QCVN 6-2:2010/BYT

[11] là 10⁵ CFU/mL. Điều này là do trong quá trình bảo quản, các vi sinh vật tồn tại trong sản phẩm sẽ thích nghi dần với điều kiện môi trường và phát triển [21].

Bảng 7, 8 và 9 cho thấy, sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân vẫn đảm bảo chất lượng cảm quan và an toàn vệ sinh thực phẩm trong 4 tuần bảo quản lạnh.

3.5. Thành phần dinh dưỡng của sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của nước ép hỗn hợp ổi - dứa bổ sung collagen thủy phân được thể hiện ở bảng 10.

Bảng 10. Thành phần dinh dưỡng của nước ép hỗn hợp ổi - dứa đóng chai bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra

Chỉ tiêu	Đơn vị	Hàm lượng
Protein	%	11,08 ± 1,01
Ẩm độ	%	84,02 ± 0,27
Khoáng	%	1,47 ± 0,70
Vitamin C	mg/100 ml	38,00 ± 1,20

Ghi chú: Số liệu thống kê được mô tả dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 10 cho thấy, độ ẩm sản phẩm có hàm lượng lớn nhất là 84,02% vì thành phần chủ yếu của sản phẩm là dịch quả. Hàm lượng protein của nước ép đạt khá cao là 11,08%, chủ yếu từ việc bổ sung collagen thủy phân. Điều này cho thấy sản phẩm có giá trị dinh dưỡng cao từ việc bổ sung collagen thủy phân vào nước ép hỗn hợp ổi - dứa giúp mang lại những lợi ích cho sức khỏe của người tiêu dùng.

4. KẾT LUẬN

Sản phẩm nước ép hỗn hợp ổi - dứa đóng chai bổ sung collagen thủy phân từ da cá tra có chất lượng tốt nhất khi kết hợp nước ép ổi và nước ép dứa ở tỷ lệ 4/6, tỷ lệ collagen thủy phân phù hợp bổ sung vào nước ép là 2%, nước ép thanh trùng ở 95°C trong 10 phút. Sản phẩm nước ép qua 4 tuần bảo quản vẫn đảm bảo được chất lượng và an toàn cho người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Siegrist, M. (2008). Factors influencing public acceptance of innovative food technologies and products. *Trends in Food Science and Technology*, 19(11), 603 - 608. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.01.017>.
2. Hassan, A., Othman, Z., Siriphanich, J. (2011). Pineapple (*Ananas cosmosus* L. Merr.). In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (pp. 194 - 218e). Woodhead Publishing.
3. Le, V. T., Bui, B. T., Nguyen, T. K., Bui, D. C. (2019). Nutritional composition of some fruits harvested in the ripening period cultivated in Vietnam. *Bioscience Research*, 16(2), 1726 - 1735.
4. Bilek, S. E., Bayram, S. K. (2015). Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of Functional Foods*, 14, 562 - 569. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.024>.
5. Verkhivker, Y., Myroshnichenko, O., Pavlenko, S., City, O. (2021). Development of collagen-containing drinks. *Food Science & Technology*, 15(2), 18 - 25.
6. Dharmayanti, N., Khadrinur, H., Handoko, Y. P., Permadi, A., Nugraha, E. (2025). Collagen extraction from tuna fish skin (*Thunnus* sp.) and its application in citrus honey tea drink (*yujacha*). *AACL Bioflux*, 18(3), 1391 - 1401.
7. Lê Thị Minh Thủy, Nguyễn Văn Thơm (2019). Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp xử lý và điều kiện chiết rút đến chất lượng của gelatin từ da cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 4, 130 - 138. <https://doi.org/10.53818/jfst.04.2024.507>.
8. Nguyễn Thị Thu Hồng, Trần Minh Tuấn, Nguyễn Tấn Hùng (2019). Ảnh hưởng của xử lý enzyme và chế độ thanh trùng đến chất lượng sản phẩm nước ép dưa lưới (*Cucumis melo* L.). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 2, 241 - 249. <https://doi.org/10.53818/jfst.04.2024.507>.
9. Trương Thị Mộng Thu, Nguyễn Văn Mười, Lê Thị Minh Thủy, Trần Thanh Trúc (2023). Ứng dụng collagen thủy phân từ hỗn hợp da và vảy cá lóc (*Channa striata*) trong sản xuất nước ép giàu collagen. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 6, 216-224.
10. AOAC. (2016). *The Official Methods of Analysis of AOAC International*. George W. Latimer, Jr (Eds), volume I.
11. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 6-2:2010/BYT đối với các sản phẩm đồ uống không cồn.
12. Wu, H., Chen, H., Shiau, C. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36, 949 - 957. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00104-2).
13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm.
14. Zhang, Y., Dutilleul, P., Li, C., Simpson, B. K. (2019). Alcalase-assisted production of fish skin gelatin rich in high molecular weight (HMW) polypeptide chains and their characterization for film forming capacity. *LWT - Food Science and Technology*, 110, 117 - 125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.012>.
15. Nguyễn Văn Tiếp, Quách Đình, Ngô Mỹ Văn (2024). *Kỹ thuật sản xuất đồ hộp rau quả*. Nxb Thanh niên, thành phố Hồ Chí Minh.
16. Vi Nhã Trân, Võ Thị Minh Thư, Nguyễn Hữu Trọng, Nguyễn Nhật Thanh, Nguyễn Phúc Huy (2023). Ảnh hưởng của điều kiện thanh trùng đến chất lượng nước giải khát từ quả thanh trà (*Bouea macrophylla* Griffth L.). *Tạp chí Khoa học Yersin – Chuyên đề Khoa học Công nghệ*, 15, 64 - 73.
17. Chen, B. H., Peng, H. Y., Chen, H. E. (1995). Changes of carotenoids, color, and vitamin a contents during processing of carrot juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1912 - 1918. <https://doi.org/10.1021/jf00055a029>.
18. Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Thanh Thúy, Đinh Công Dinh, Nguyễn Ái Thạch, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền (2014). Ảnh hưởng của áp suất và thời gian cô đặc chân không, chất chống

oxy hóa và chế độ thanh trùng đến chất lượng nước dừa cô đặc. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 31, 12 - 20.

19. Rico-Munoz, E. (2017). Heat resistant molds in foods and beverages: recent advances on assessment and prevention. *Current Opinion in Food Science*, 17, 75 - 83. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.011>.

21. George, A. (2021). Fruit juices spoilage in

the juices processing industry and ways to prevent it through co-operative sectors. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 8(4), 4472 - 4480. <https://www.researchgate.net/publication/356147965>.

21. Nguyễn Trọng Cẩn, Đỗ Minh Phụng (1990). *Công nghệ chế biến thực phẩm thủy sản tập II - Chế biến nước mắm, chế biến khô, thức ăn chín*. Nxb Nông nghiệp - Hà Nội.

RESEARCH ON THE PRODUCTION OF GUAVA (*Psidium guajava* L.) PINEAPPLE (*Ananas comosus*) PASTEURIZED MIXED JUICE WITH HYDROLYZED COLLAGEN SUPPLEMENT FROM PANGASIAN FISH (*Pangasianodon hypophthalmus*) SKIN

Truong Thi Mong Thu¹, Le Thi Minh Thuy¹

¹College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University

Abstract

The study was conducted to produce a pasteurized guava-pineapple mixed juice product supplemented with hydrolyzed collagen from catfish skin that meets nutritional, sensory and food safety criteria. The research results showed that mixing guava juice and pineapple juice at a ratio of 4/6 gave a product with beautiful color and the highest sensory score of 18.00 points. The ratio of added hydrolyzed collagen to the juice mixture was 2%, giving a product with high antioxidant activity and sensory score of 43.58% and 17.56 points, respectively. When pasteurizing the mixed juice product at 95°C for 10 minutes, the product had a high sensory score of 18.00 points and a low total aerobic microorganisms of 4.09 x 10¹ (CFU/mL). The product of pasteurized bottled guava - pineapple mixed juice supplemented with hydrolyzed collagen from pangasius skin was refrigerated (0 - 4°C) for 4 weeks and still maintained good sensory quality, product color, antioxidant activity and total aerobic microorganisms within the allowable limit, ensuring safety for consumers. The results show the potential for applying hydrolyzed collagen in the development of functional foods aimed at health and beauty.

Keywords: *Antioxidant activity, hydrolyzed collagen, mixed guava – pineapple juice, pasteurization, storage.*

Ngày nhận bài: 25/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 4/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 24/7/2025

Ngày duyệt đăng: 5/8/2025

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ HÓA LÝ ĐẾN HIỆU SUẤT CHIẾT VÀ ĐỘ TINH KHIẾT PHYCOCYANIN TRONG SINH KHỐI *Spirulina* SP2 và *Spirulina* SP4

Bùi Thị Thu Uyên¹, Nguyễn Thị Phương Dung², Nguyễn Thị Ngoan¹,
Bá Thị Dương¹, Nguyễn Thị Liễu³, Lưu Ngọc Sinh³,
Đỗ Thị Cẩm Vân⁴, Trần Đăng Thuận^{1,*}

¹*Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

²*Khoa Khoa học Ứng dụng, Trường Đại học Công nghệ Giao thông Vận tải*

³*Khoa Công nghệ Kỹ thuật Môi trường, Trường Đại học Thủ đô Hà Nội*

⁴*Viện Công nghệ HaUI, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội*

*Email: tdangthuan@ich.vast.vn

TÓM TẮT

Spirulina được sản xuất và bán trên thị trường làm thực phẩm bổ sung giàu protein. Vi khuẩn lam này không chỉ được quan tâm nhờ hàm lượng protein cao, mà quan trọng hơn là các hợp chất trong tảo còn có giá trị rất lớn ứng dụng trong dược, mỹ phẩm, trong đó có phycocyanin (chiếm khoảng 14% khối lượng sinh khối). Tuy nhiên, phycocyanin sẽ được sử dụng rộng rãi ở các cấp khác nhau và có hiệu quả hơn khi chúng được sử dụng trực tiếp ở dạng có độ tinh khiết cao hơn. Trong nghiên cứu này, sinh khối 2 chủng vi khuẩn lam *Spirulina* SP2 và *Spirulina* SP4 được sử dụng để nghiên cứu chiết phycocyanin, với các yếu tố ảnh hưởng gồm: Dung môi chiết, nhiệt độ chiết, khuấy trộn đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin. Kết quả cho thấy, SP2 cho nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin cao hơn khi chiết với nước, trong khi SP4 cho kết quả tốt hơn khi dùng đệm phosphate. Theo đó, xử lý lạnh ở 4°C trong 24 giờ là điều kiện tối ưu cho SP2 và SP4 khi chiết phycocyanin ở trong dung môi nước và đệm phosphate. Trong điều kiện đó, phycocyanin thô của SP2 và SP4 đạt nồng độ và độ tinh khiết tương ứng 0,873 mg/mL và 0,9; 0,730 mg/mL và 0,7. Đáng chú ý, khi chiết ở 25°C có khuấy từ, độ tinh khiết của phycocyanin từ sinh khối SP2 và SP4 đạt tương ứng 2,5 và 2,0. Phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 được tinh sạch bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa và đạt độ tinh khiết cực đại 3,37 với hệ số tinh khiết đạt 3,71 khi 75% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa được sử dụng. Phycocyanin tinh chế từ sinh khối SP2 đạt chất lượng thực phẩm, mỹ phẩm, làm thuốc thử.

Từ khóa: *Spirulina* SP2, *Spirulina* SP4, phycocyanin, chiết, tinh chế.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tảo xoắn *Spirulina* là một loại vi khuẩn lam dạng sợi xoắn, có màu xanh lục đặc trưng do sự kết hợp giữa diệp lục và phycobiliprotein. Theo tổ chức Y tế thế giới WHO, tảo xoắn *Spirulina* được xem là một nguồn dinh dưỡng và được phẩm tiềm năng của Thế kỷ 21. *Spirulina* không chỉ được quan tâm nhờ hàm lượng protein cao, mà quan trọng hơn là các hợp chất trong tảo còn có giá trị

rất lớn trong chuẩn đoán và điều trị bệnh. Trong đó, phycocyanin (chiếm khoảng 14%) là thành phần được chú ý đến nhiều nhất bởi nó có giá trị rất lớn trong chăm sóc sức khỏe và hỗ trợ điều trị một số bệnh nan y: Ung thư, HIV... [1]. Tuy nhiên, phycocyanin sẽ được sử dụng rộng rãi và có hiệu quả hơn khi chúng được sử dụng trực tiếp ở dạng nguyên chất.

Phycocyanin là một loại bột màu xanh chiết xuất từ *Spirulina*, phức hợp này đã được tìm thấy ở vi khuẩn lam và các loại tảo đỏ. Ngoài ra, phycocyanin thường được định nghĩa là một sắc tố protein phức tạp, có khả năng hấp thụ ánh sáng. Đây là một phần của nhóm phycobiliprotein, đóng vai trò như một sắc tố phụ trong quá trình quang hợp, giúp tảo hấp thụ và chuyển đổi năng lượng ánh sáng. Vì phycocyanin là một sắc tố protein nên phức hợp này có tính chất giống với protein. Phycocyanin không hòa tan trong rượu và chất béo, ổn định với ánh sáng, nhiệt độ và axit, không độc hại và được sử dụng như một chất phụ gia trong thực phẩm và mỹ phẩm. Phức hợp này bao gồm các đơn vị α và β -peptide có khối lượng phân tử trung bình khoảng 40 kDa, mỗi chuỗi liên kết với một nhóm chromophore phycocyanobilin. Phổ hấp thụ của trimer có một đỉnh hấp thụ riêng biệt ở 650 nm, một đỉnh hấp thụ thứ cấp ở 620 nm, một dải hấp thụ ở 360 và 306 nm trong phần tử tia cực tím gần và đỉnh hấp thụ protein ở 280 nm [1].

C-Phycocyanin có thể được chiết xuất và tinh chế bằng nhiều phương pháp khác nhau. Một phương pháp phổ biến liên quan đến việc phá vỡ tế bào bao gồm sử dụng chu kỳ đông - tan, siêu âm hoặc nghiền bi sau đó là chiết xuất với dung môi thích hợp như nước hoặc các dung dịch đệm. Các bước tinh chế thường bao gồm kết tủa muối amoni sulfat, sắc ký trao đổi ion, tương tác kỵ nước, tách bằng màng [2]. Cụ thể, phycocyanin được chiết bằng cách ngâm sinh khối *Spirulina* trong dung dịch đệm phosphate 0,1M có pH = 7 hoặc dung dịch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [3]. Phycocyanin được chiết theo chu trình đông lạnh ở -25 đến -15°C hoặc nitrogen lỏng và làm rã đông ở 4 - 30°C [4]. So với các phương pháp khác thì phương pháp này cho hiệu quả cao nhất. Ngoài ra, phycocyanin còn được chiết bằng phương pháp phá vỡ tế bào bằng biện pháp cơ học, áp suất cao [2].

Về tinh chế phycocyanin, phycocyanin thô sau khi chiết có thể được tinh sạch qua ba bước quy trình: Phân đoạn ammonium sulfate, sắc ký loại trừ kích thước Sephadex G-150 và sắc ký trao đổi ion DEAE cellulose [4]. Phương pháp này cho độ tinh khiết là 3,64 [3]. Trong những năm gần đây, kỹ thuật chiết tách 2 pha nước (ATPE - Aqueous Two-

Phase Extraction) đã được áp dụng rộng rãi để tinh sạch các protein, bao gồm cả phycocyanin [5]. Trong hệ thống ATPE, 2 pha nước riêng biệt được hình thành bằng cách pha trộn polyethylene glycol (PEG) với một polymer khác như dextran hoặc muối ở nồng độ thích hợp. Sự phân bố protein trong hệ hai pha phụ thuộc vào đặc tính bề mặt, độ kỵ nước và đặc tính hóa-lý của mỗi pha. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả phân tách bao gồm: Loại polymer, khối lượng phân tử, tỷ lệ thể tích pha, pH, loại và nồng độ muối [6]. Từ những tính chất đó đã vạch ra nhiều hướng nghiên cứu để tìm ra hướng tối ưu. Khi dùng ATPE làm tinh sạch thì phycocyanin bị lôi kéo về một pha, còn các chất khác tập trung vào pha phía trên. Ứng dụng kỹ thuật này, kết quả nghiên cứu của Patil và Raghavarao (2007) đã đạt được độ tinh khiết của phycocyanin từ *Spirulina platensis* là 3,52 khi dùng dung môi hai pha polyethylene glycol (4000)/potassium phosphate system [7].

Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là: (i) khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố dung môi, nhiệt độ, và khuấy trộn đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 và SP4; (ii) tinh chế phycocyanin bằng dung dịch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa ở các nồng độ khác nhau để tăng độ tinh khiết của phycocyanin lên trên 3,0 đáp ứng nhu cầu sử dụng trong thực phẩm, mỹ phẩm và làm thuốc thử.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vi khuẩn lam giống và điều kiện bảo quản

Giống vi khuẩn lam gồm 2 chủng *Spirulina* SP2 và *Spirulina* SP4, cung cấp bởi GS.TS. Đặng Đình Kim, Phòng Thủy sinh Môi trường, Viện Khoa học công nghệ Năng lượng và Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. SP2 và SP4 được nuôi giữ trong bình tam giác 1.000 mL chứa 500 mL môi trường Zarouk hiệu chỉnh với điều kiện ánh sáng chiếu từ đèn LED (4.500 LUX) và được lắc liên tục trên máy lắc với tốc độ 150 vòng/phút. Thành phần của môi trường Zarrouk gồm (phần A) NaHCO_3 16,80 g và K_2HPO_4 0,50 g; (phần B) NaNO_3 2,50 g; K_2SO_4 1,00 g; NaCl 1,00 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,20 g; EDTA- $\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,08 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,04 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g; dung dịch A5, 1 mL/L.

Dung dịch A5 gồm các thành phần: H_3BO_3 , 2,86 g/L; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1,81 g/L; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,222 g/L; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,39 g/L; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,079 g/L; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,0494 g/L. pH của môi trường nuôi được điều chỉnh nếu cần thiết lên mức trên 10 bằng NaOH 2N.

Để có lượng lớn sinh khối, SP2 và SP4 được nuôi trong bình nhựa Việt Nhật loại 10 L đã lọc tiết trùng qua màng lọc 0,45 μm ở tỷ lệ giống 10% (v/v), nuôi dưới điều kiện sục 5% CO_2 (0,1 vvm) dưới điều kiện ánh sáng xác định 9.000 lux. Bình phản ứng được trang bị ba đầu ống inox 304 ($\Phi 6$) để sục khí, lấy mẫu và thoát khí. Đầu inox 304 sục khí được nối với ống silicon kết nối với đồng hồ đo lưu lượng khí đến máy sục khí Fujimac và thời gian nuôi SP2 và SP4 là 14 ngày [8]. Sinh khối SP2 và SP4 được thu hoạch bằng phương pháp lọc qua vải lọc. Sinh khối được sấy lạnh bằng máy (MSL300MT, Mactech Co., Ltd, Vietnam) ở 40°C đến khối lượng không đổi. Sinh khối tảo khô được nghiền bằng máy nghiền mini (800A, LaLiFa Co., Ltd, Vietnam) tạo ra bột sinh khối tảo có kích thước < 5 μm và bảo quản dưới 4°C để phục vụ cho nghiên cứu chiết phycocyanin.

2.2. Các phương pháp chiết tinh sạch phycocyanin

2.2.1. Chiết phycocyanin thô

Cân 0,5 g sinh khối SP2 hoặc SP4 trộn với 25 mL nước khử ion hoặc dung dịch đệm phosphate (pH = 7). Hỗn hợp được lắc xoáy 2 phút và xử lý lạnh dưới các điều kiện nhiệt độ và khuấy trộn khác nhau trong 24 giờ. Các biến số khảo sát gồm dung môi nước hoặc đệm phosphate (pH = 7,0), nhiệt độ chiết 4°C hoặc - 4°C, khuấy trộn (khuấy từ ở 25°C hoặc chỉ xử lý lạnh 4°C tĩnh). Hỗn hợp sau xử lý lạnh được ly tâm ở nhiệt độ phòng, 4.000 vòng/phút, trong 5 phút để thu dịch chiết. Dịch chiết được đo quang ở các bước sóng 280, 620, 650 nm để tính hàm lượng phycocyanin và độ tinh khiết của phycocyanin.

2.2.2. Tinh sạch phycocyanin

Dung dịch phycocyanin chiết từ 10 g sinh khối SP2 hoặc SP4 dưới điều kiện tối ưu nghiên cứu từ

mục 2.2.1 được sử dụng để tinh sạch phycocyanin và tăng độ tinh khiết. Các bước tinh sạch phycocyanin bao gồm thu hoạch phycocyanin thô và tinh sạch bằng phương pháp kết tủa với $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tại 25%, 50% và 70% nồng độ bão hòa ở điều kiện nhiệt độ phòng. Phycocyanin kết tủa được ly tâm 4.000 vòng/phút, trong 5 phút để thu dịch chiết. Dịch chiết được đo quang ở các bước sóng 280, 620, 650 nm để tính nồng độ phycocyanin và độ tinh khiết của phycocyanin.

2.2.3. Phương pháp phân tích phycocyanin

- Nồng độ Phycocyanin được tính theo công thức thực nghiệm phát triển bởi Bennett và Bogorad (1973) [9] như sau:

$$PC = \frac{OD_{620} - 0.474OD_{650}}{5.34} \quad (1)$$

Trong đó: PC là nồng độ C-phycocyanin (mg/mL); OD620 là mật độ quang của dịch chiết đo tại bước sóng 620 nm; OD650 là mật độ quang của dịch chiết đo tại bước sóng 650 nm.

Độ tinh khiết của C-phycocyanin được tính theo công thức phát triển bởi Abalde và cs (1998)

$$[10] \text{ như sau: } EP = \frac{OD_{620}}{OD_{280}} \quad (2)$$

Trong đó: OD620 là mật độ quang của dịch chiết đo tại bước sóng 620 nm; OD280 là mật độ quang của dịch chiết đo tại bước sóng 280 nm;

Hệ số độ tinh khiết của C-phycocyanin (PF) được tính theo công thức công bố bởi Antelo và cs

$$(2015) [11] \text{ như sau: } PF = \frac{EP_p}{EP_c} \quad (3)$$

Trong đó: EPP là độ tinh khiết của C-phycocyanin trước khi tinh sạch; EPC là độ tinh khiết của C-phycocyanin sau khi tinh sạch.

2.2.4. Phân tích số liệu

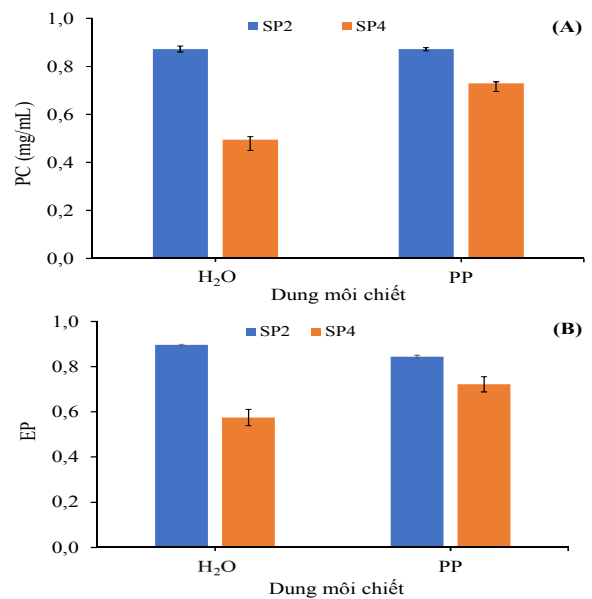
Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả đo được trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Số liệu được xử lý bằng phần mềm excel của Microsoft 2016. Kết quả của các thí nghiệm được so sánh sự khác nhau thông qua chỉ số p -value, với $p < 0,05$ được xem là sự sai khác có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của dung môi đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin trong sinh khối tảo xoắn

Trong quá trình chiết xuất phycocyanin, lựa chọn dung môi đóng vai trò then chốt vì nó không chỉ ảnh hưởng đến khả năng hòa tan sắc tố mà còn tác động trực tiếp đến hiệu quả thu hồi và độ tinh khiết của dịch chiết. Trong nghiên cứu này, 2 loại dung môi phổ biến là nước cất (H_2O) và dung dịch đệm phosphate đã được sử dụng để đánh giá khả năng chiết xuất phycocyanin từ sinh khối hai chủng tảo *Spirulina*: SP2 và SP4. Quá trình chiết được thực hiện bằng cách trộn dung môi với sinh khối ở tỷ lệ xác định, sau đó hỗn hợp được xử lý lạnh ở $4^\circ C$ trong 24 giờ nhằm phá vỡ cấu trúc tế bào và hỗ trợ giải phóng phycocyanin. Dịch chiết sau đó được tách bằng phương pháp ly tâm để phân tích nồng độ và độ tinh khiết của sắc tố. Kết quả phân tích được trình bày trong hình 1 cho thấy, sự khác biệt đáng kể về hiệu quả chiết giữa 2 loại dung môi và giữa 2 chủng tảo. Cụ thể, đối với chủng SP2, nồng độ phycocyanin thu được khi sử dụng nước cất và dung dịch đệm phosphate lần lượt là 0,873 mg/mL và 0,872 mg/mL. Sự chênh lệch này là không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), cho thấy cả 2 loại dung môi đều có hiệu quả tương đương trong việc chiết xuất phycocyanin từ SP2. Tuy nhiên, với chủng SP4, sự khác biệt trở nên rõ rệt hơn khi nồng độ phycocyanin thu được từ nước cất chỉ đạt 0,495 mg/mL, trong khi đệm phosphate cho giá trị cao hơn đáng kể là 0,730 mg/mL. Điều này cho thấy, đệm phosphate hiệu quả hơn trong việc chiết phycocyanin từ SP4 so với nước cất (Hình 1A). Xét về độ tinh khiết của phycocyanin (tỷ lệ hấp thụ A_{620}/A_{280}), xu hướng tương tự cũng được quan sát. Đối với SP2, độ tinh khiết đạt được là 0,9 với nước và 0,8 với dung dịch đệm phosphate; trong khi đối với SP4, giá trị này là 0,6 và 0,7 tương ứng với nước và đệm phosphate (Hình 1B). Như vậy, có thể thấy rằng nếu mục tiêu là tối ưu hóa cả nồng độ và độ tinh khiết phycocyanin thu được, thì lựa chọn dung môi cần được cân nhắc theo từng chủng tảo cụ thể: Nước cất thích hợp hơn với SP2, trong khi đệm phosphate lại phù hợp với SP4.

Ngoài ra, số liệu thí nghiệm cũng chỉ ra rằng chủng SP2 cho hiệu quả chiết phycocyanin vượt trội hơn hẳn so với SP4, bất kể loại dung môi được sử dụng. Cụ thể, nồng độ phycocyanin thu được từ SP2 dao động trong khoảng 0,872 - 0,873 mg/mL, so với 0,495 - 0,730 mg/mL của SP4; đồng thời, độ tinh khiết của SP2 cũng cao hơn (0,8 - 0,9) so với SP4 (0,6 - 0,7). Điều này cho thấy, khả năng tích lũy phycocyanin nội tại của SP2 có thể cao hơn so với SP4, đây là yếu tố quan trọng cần được cân nhắc khi lựa chọn chủng tảo làm nguồn nguyên liệu chiết xuất trong các ứng dụng công nghiệp và nghiên cứu.

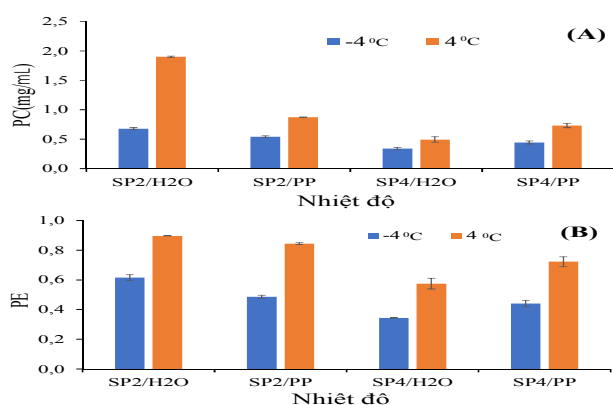


Hình 1. Ảnh hưởng của dung môi đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 và SP4. PP, dung dịch đệm phosphate. Nồng độ phycocyanin trong dịch chiết (A), độ tinh khiết của phycocyanin trong dịch chiết (B). Điều kiện thí nghiệm $4^\circ C$. PP, dung dịch đệm phosphate

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin trong sinh khối tảo xoắn

Trong quá trình chiết xuất phycocyanin, nhiệt độ là một yếu tố có ảnh hưởng rõ rệt đến cả hiệu suất thu hồi và độ tinh khiết của dịch chiết. Nhiệt độ không chỉ tác động đến mức độ phá vỡ tế bào mà còn ảnh hưởng đến độ ổn định của phycocyanin - một sắc tố protein nhạy cảm với điều kiện môi trường. Trong nghiên cứu này, 2 điều kiện nhiệt độ là $+4^\circ C$ và $-4^\circ C$ được lựa chọn để

đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình chiết xuất phycocyanin từ 2 chủng tảo *Spirulina* SP2 và SP4. Sau khi trộn sinh khối với dung môi (nước cất hoặc dung dịch đệm phosphate), hỗn hợp được xử lý ở các mức nhiệt này trong 24 giờ, sau đó ly tâm để thu dịch chiết. Kết quả về nồng độ và độ tinh khiết được trình bày trong hình 2. Phân tích số liệu cho thấy, nhiệt độ xử lý +4°C cho hiệu quả chiết xuất vượt trội so với -4°C ở cả 2 chủng SP2 và SP4. Cụ thể, nồng độ phycocyanin thu được từ SP2 và SP4 tại +4°C dao động trong khoảng 0,872 - 0,873 mg/mL và 0,495 - 0,730 mg/mL, tương ứng. Trong khi đó, tại -4°C, nồng độ phycocyanin ghi nhận được lần lượt chỉ là 0,540 - 0,679 mg/mL đối với SP2 và 0,340 - 0,446 mg/mL đối với SP4 (Hình 2A). Sự chênh lệch này thể hiện ảnh hưởng tiêu cực của nhiệt độ âm đến khả năng chiết xuất sắc tố, có thể do hiện tượng đông đá gây phá hủy cấu trúc protein hoặc làm giảm khả năng khuếch tán của sắc tố vào dung môi. Độ tinh khiết của phycocyanin - được đánh giá qua tỉ số hấp thụ A_{620}/A_{280} - cũng cho thấy xu hướng tương tự. Tại điều kiện +4°C, độ tinh khiết thu được cao hơn đáng kể với giá trị dao động từ 0,8 - 0,9 (SP2) và 0,6 - 0,7 (SP4); trong khi đó, tại -4°C, các giá trị tương ứng chỉ đạt 0,5 - 0,6 đối với SP2 và 0,3 - 0,4 đối với SP4 (Hình 2B). Kết quả này củng cố thêm nhận định rằng điều kiện nhiệt độ dương gần 0°C là phù hợp hơn để bảo toàn tính chất protein của phycocyanin, cũng như hỗ trợ hiệu quả quá trình chiết xuất từ sinh khối tảo.



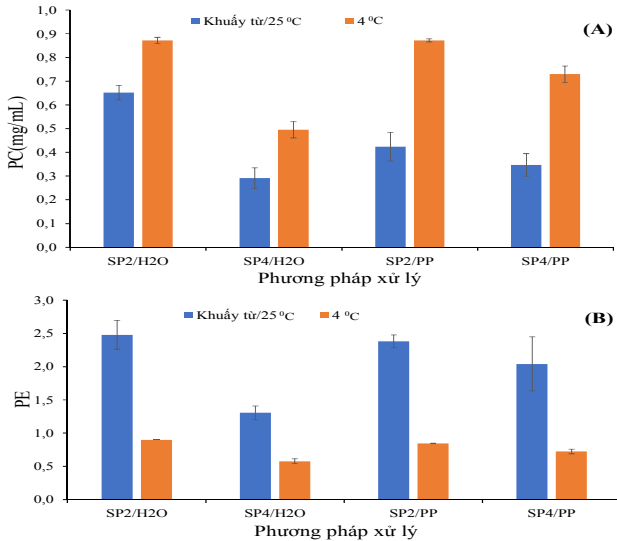
Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 và SP4. Nồng độ phycocyanin trong dịch chiết (A), độ tinh khiết của phycocyanin trong dịch chiết (B). PP, dung dịch đệm phosphate

Tổng hợp các kết quả thu được, có thể kết luận rằng nhiệt độ xử lý +4°C là điều kiện thích hợp hơn so với -4°C để chiết xuất phycocyanin từ 2 chủng tảo *Spirulina* SP2 và SP4, xét cả về mặt hiệu suất thu hồi và chất lượng sản phẩm. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đó, trong đó phycocyanin được chứng minh là ổn định tốt hơn ở nhiệt độ thấp và dễ bị biến tính khi tiếp xúc với điều kiện đóng băng và rã đông lặp lại.

3.3. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin trong sinh khối tảo

Trong quy trình chiết xuất phycocyanin từ sinh khối tảo *Spirulina*, phương pháp tiền xử lý sinh khối đóng vai trò thiết yếu trong việc phá vỡ thành tế bào và giải phóng sắc tố ra môi trường dung môi. Nghiên cứu này tập trung đánh giá ảnh hưởng của hai phương pháp xử lý phổ biến: (i) xử lý nhiệt lạnh ở +4°C; (ii) khuấy từ ở 25°C đến hiệu quả chiết xuất phycocyanin từ hai chủng *Spirulina* SP2 và SP4. Kết quả về nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin được thể hiện lần lượt trong hình 3A và 3B. Dữ liệu thực nghiệm cho thấy, phương pháp xử lý nhiệt lạnh ở +4°C mang lại nồng độ phycocyanin cao hơn đáng kể so với phương pháp khuấy từ. Cụ thể, với chủng SP2, nồng độ phycocyanin thu được ở +4°C dao động từ 0,872 - 0,873 mg/mL, trong khi phương pháp khuấy từ chỉ đạt 0,423 - 0,651 mg/mL. Tương tự, ở chủng SP4, nồng độ đạt được từ xử lý lạnh là 0,495 - 0,730 mg/mL, vượt trội hơn so với 0,291 - 0,347 mg/mL khi xử lý bằng khuấy từ (Hình 3A). Tuy nhiên, điều đáng chú ý là độ tinh khiết của dịch chiết lại cho xu hướng ngược lại. Ở điều kiện khuấy từ, độ tinh khiết đạt giá trị cao hơn rõ rệt: 2,4 - 2,5 đối với SP2 và 1,3 - 2,0 đối với SP4, so với chỉ 0,8 - 0,9 (SP2) và 0,6 - 0,7 (SP4) khi xử lý bằng phương pháp nhiệt lạnh (Hình 3B). Sự khác biệt này có thể được giải thích do khuấy từ giúp loại bỏ các tạp chất không tan hoặc không bền trong điều kiện nhiệt độ phòng, trong khi phương pháp xử lý lạnh, mặc dù giúp phá vỡ tế bào hiệu quả hơn, lại không loại trừ hoàn toàn các protein hoặc hợp chất đồng chiết có thể ảnh hưởng đến giá trị tinh khiết. Kết quả này phần nào tương đồng với các nghiên cứu khác. Cụ thể, nghiên cứu của Patil và Raghavarao

(2007) chỉ ra rằng, khuấy từ kết hợp với hệ 2 pha nước có thể nâng cao đáng kể độ tinh khiết của phycocyanin, đạt giá trị > 4,0, khi so sánh với các phương pháp cơ học đơn lẻ [7]. Tương tự, Niu và cs (2007) áp dụng kỹ thuật chiết bằng khuấy từ kết hợp sắc ký trao đổi ion có thể tăng độ tinh khiết lên đến 5,0, nhưng yêu cầu quy trình xử lý nhiều bước và điều kiện kiểm soát nghiêm ngặt [12].

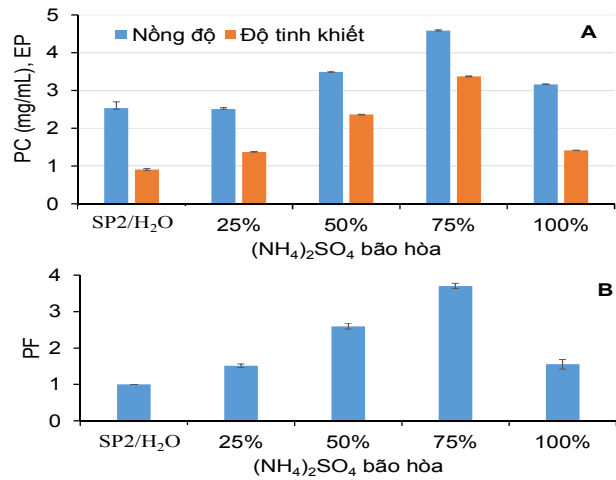


Hình 3. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 và SP4. Nồng độ phycocyanin trong dịch chiết (A), độ tinh khiết của phycocyanin trong dịch chiết (B). PP, dung dịch đệm phosphate

3.4. Độ tinh khiết của phycocyanin sau tinh sạch

Trong phần nghiên cứu này lượng 10 g sinh khối SP2 được sử dụng để chiết với nước cất trong điều kiện lạnh +4°C. Dịch chiết chứa phycocyanin thô sau đó được tinh sạch bằng phương pháp kết tủa với $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở các nồng độ bão hòa là 25%, 50%, 75% và 100%. Kết quả sau tinh sạch thể hiện ở hình 4, cho thấy nồng độ ban đầu của phycocyanin thô sau khi chiết là khoảng 2,5 mg/mL. Giá trị nồng độ này giữ ở mức tương đương 2,51 mg/mL khi sử dụng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 25% bão hòa. Sau đó tăng lên mức 3,49 - 4,59 mg/mL khi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa tăng lên 50 - 75%. Tuy nhiên, tăng thêm nồng độ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa lên mức 100% thì nồng độ phycocyanin kết tủa giảm xuống 3,16 mg/mL. Xu hướng của độ tinh khiết phycocyanin cũng tương tự như xu hướng nồng độ phycocyanin và đạt cực

đại 3,37 khi sử dụng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa 75% (Hình 4A). Hệ số tinh khiết của phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 cũng đạt mức cực đại 3,71 khi nồng độ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa là 75% (Hình 4B).



Hình 4. Nồng độ và độ tinh khiết (A) và hệ số tinh khiết PF (B) của phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 sau quá trình tinh sạch bằng phương pháp kết tủa với $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa

Đối với các ứng dụng thực phẩm và dược phẩm, độ tinh khiết của phycocyanin thường được đánh giá bằng tỷ lệ hấp thụ ($\text{EP} = \text{A}_{620}/\text{A}_{280}$), trong đó tỷ lệ cao hơn biểu thị độ tinh khiết cao hơn. Tỷ lệ 0,7 trở lên thường được coi là cấp thực phẩm. Tỷ lệ từ 0,7 - 3,9 được coi là cấp thuốc thử và tỷ lệ 4,0 trở lên được coi là cấp phân tích [13].

Kết quả tinh chế phycocyanin từ sinh khối SP2 trong nghiên cứu này đạt độ tinh khiết 3,37 nằm trong dạng cấp thuốc thử. Như vậy, phycocyanin sau quá trình tinh chế với $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa 75% có thể dùng tốt cho thực phẩm, mỹ phẩm, làm thuốc thử. Tuy nhiên, để tăng phạm vi ứng dụng của phycocyanin chiết từ SP2, các phương pháp tinh sạch khác hiện đại hơn như sắc ký cột (trao đổi ion, lọc gel, tương tác kỵ nước, công nghệ màng lọc/siêu lọc, chiết lỏng rắn hai pha) để có thể đạt hệ số tinh khiết lên tới 5,0 - 7,0 sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm và phân tích [14, 15].

4. KẾT LUẬN

Các yếu tố ảnh hưởng gồm dung môi chiết, nhiệt độ chiết, khuấy trộn đến nồng độ và độ tinh khiết của phycocyanin chiết từ sinh khối vi khuẩn lam SP2 và SP4 đã được khảo sát trong nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu cho thấy, SP2 cho nồng

độ và độ tinh khiết của phycocyanin cao hơn khi chiết với nước, trong khi SP4 cho kết quả tốt hơn khi dùng đệm phosphate. Theo đó, xử lý lạnh ở 4°C trong 24 giờ là điều kiện tối ưu cho SP2 và SP4 khi chiết phycocyanin ở trong dung môi nước và đệm phosphate. Trong điều kiện đó, phycocyanin thô của SP2 và SP4 đạt nồng độ và độ tinh khiết tương ứng 0,873 mg/mL và 0,9; 0,730 mg/mL và 0,7. Đáng chú ý, khi chiết ở 25°C có khuấy từ, độ tinh khiết của phycocyanin từ sinh khối SP2 và SP4 đạt tương ứng 2,5 và 2,0. Phycocyanin chiết từ sinh khối SP2 được tinh sạch bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa và đạt độ tinh khiết cực đại 3,37 với hệ số tinh khiết đạt 3,71 khi 75% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hòa được sử dụng. Phycocyanin tinh chế từ sinh khối SP2 đạt chất lượng thực phẩm, mỹ phẩm, làm thuốc thử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fernandes Raquel, Campos Joana, Serra Mónica, Fidalgo Javier, Almeida Hugo, Casas Ana, Toubarro Duarte, Barros Ana IRNA (2023). Exploring the benefits of phycocyanin: From Spirulina cultivation to its widespread applications. *Pharmaceuticals*, 16(4), 592.
2. Lin Juying, Pang Yan, Huo Yu, Jiang Jiaming, Zhou Bingfeng, Shang Changhua (2025). Extraction, purification and characterization of Spirulina phycocyanin. *Algal Research*, 85, 103861.
3. Eriksen Niels T. (2008). Production of phycocyanin - a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 1 - 14.
4. Soni Badrish, Kalavadia Beena, Trivedi Ujjval, Madamwar Datta (2006). Extraction, purification and characterization of phycocyanin from Oscillatoria quadripunctulata - Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. *Process Biochemistry*, 41(9), 2017 - 2023.
5. Cottas Arthur Godoy, Ribeiro Eloízio Júlio, Watanabe Erika Ohta, Ferreira Juliana de Souza (2021). Evaluation of extraction methods and purification by aqueous two-phase systems of phycocyanin from Anabaena variabilis and Nostoc sp.. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 38(3), 617 - 627.
6. Zhao Li, Peng Yi-liang, Gao Jia-mei, Cai Wei-min (2014). Bioprocess intensification: an aqueous two-phase process for the purification of C-phycocyanin from dry Spirulina platensis. *European Food Research and Technology*, 238(3), 451 - 457.
7. Patil Ganapathi, Raghavarao K. S. M. S. (2007). Aqueous two phase extraction for purification of C-phycocyanin. *Biochemical Engineering Journal*, 34(2), 156 - 164.
8. Do Thi Cam Van, Tran Dang Thuan, Le Truong Giang, Nguyen Quang Trung (2020). Characterization of endogenous auxins and gibberellins produced by Chlorella sorokiniana TH01 under phototrophic and mixotrophic cultivation modes toward applications in microalgal biorefinery and crop research. *Journal of Chemistry*, 2020, 4910621.
9. A Bennett L Bogorad (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*, 58(2), 419 - 435.
10. Abalde Julio, Betancourt Liliana, Torres Enrique, Cid Angeles, Barwell Clive (1998). Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium Synechococcus sp. IO9201. *Plant Science*, 136(1), 109 - 120.
11. Antelo Francine Silva, Costa Jorge Alberto Vieira, Kalil Susana Juliano (2015). Purification of C-phycocyanin from Spirulina platensis in aqueous two-phase systems using an experimental design. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58, 1 - 11.
12. Jian-Feng Niu, Guang-Ce Wang (2007). Large-scale recovery of C-phycocyanin from Spirulina platensis using expanded bed adsorption chromatography. *Journal of Chromatography B*, 850(1 - 2), 267 - 276.
13. Pez Jaeschke Débora, Rocha Teixeira Ingrid, Damasceno Ferreira Marczak Ligia, Domeneghini Mercali Giovana (2021). Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, 143, 110314.

14. Lauceri Rosaria, Cavone Cristina, Chini Zittelli Graziella, Kamburska Lyudmila, Musazzi Simona, Torzillo Giuseppe (2023). High purity grade phycocyanin recovery by decoupling cell lysis from the pigment extraction: An innovative approach. *Food and Bioprocess Technology*, 16(1), 111 - 121.
15. Patil Ganapathi, Chethana S., Sridevi A. S., Raghavarao K. S. M. S. (2006). Method to obtain C-phycocyanin of high purity. *Journal of Chromatography A*, 1127(1), 76 - 81.

RESEARCH ON THE EFFECT OF PHYSICOCHEMICAL FACTORS ON THE EXTRACTION EFFICIENCY AND PURITY OF PHYCOCYANIN IN *Spirulina* SP2 và *Spirulina* SP4 BIOMASS

**Bui Thi Thu Uyen¹, Nguyen Thi Phuong Dung², Nguyen Thi Ngoan¹, Ba Thi Duong¹,
Nguyen Thi Lieu³, Luu Ngoc Sinh³, Do Thi Cam Van⁴, Tran Dang Thuan¹**

¹*Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)*

²*Department of Applied Science, University of Transport Technology*

³*Faculty of Environmental Engineering, Hanoi Metropolitan University*

⁴*HaUI Institute of Technology, Hanoi University of Industry (HaUI)*

Abstract

Spirulina is produced and marketed as a protein-rich food supplement. This cyanobacterium is not only of interest because of its high protein content, but more importantly, the compounds in the algae are also of great value for pharmaceutical and cosmetic applications, including phycocyanin (accounting for about 14% of the biomass weight). However, phycocyanin could be widely used at different levels and is more effective when it is used directly in a form of higher purity. In this study, the biomass of two cyanobacterial strains *Spirulina* SP2 and *Spirulina* SP4 were used to study the extraction of phycocyanin, with the influencing factors including extraction solvent, extraction temperature, and agitation on the concentration and purity of phycocyanin. The results showed that SP2 gave higher concentration and purity of phycocyanin when extracted with water, while SP4 gave better results when using phosphate buffer. Accordingly, cold treatment at 4°C for 24 hours was the optimal condition for SP2 and SP4 when extracting phycocyanin in respective water and phosphate buffer solvents. Under these conditions, crude phycocyanin of SP2 and SP4 reached concentrations and purities of 0.873 mg/mL and 0.9; 0.730 mg/mL and 0.7, respectively. Notably, when extracted at 25°C with magnetic stirring, the purities of phycocyanin from SP2 and SP4 biomass reached 2.5 and 2.0, respectively. Phycocyanin extracted from SP2 biomass was purified with saturated (NH₄)₂SO₄ and reached a maximum purity of 3.37 with a purity factor of 3.71 when 75% saturated (NH₄)₂SO₄ was used. Phycocyanin purified from SP2 biomass was of food, cosmetic, and reagent quality.

Keywords: *Extraction, purification, phycocyanin, spirulina SP2, spirulina SP4.*

Ngày nhận bài: 25/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 4/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 22/7/2025

Ngày duyệt đăng: 5/8/2025

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NƯỚC CỐT CHANH DÂY MẬT ONG (*Passiflora edulis*)

Đặng Xuân Đào^{1*}, Trần Hoàng Ái¹, Trần Ngọc Diệp²,

Nguyễn Ngọc Nhi³, Nguyễn Ngọc Quý³

¹Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Cửu Long

²Viện Công nghệ thực phẩm - Sinh học, Trường Đại học Cửu Long

³Phòng Quản lý khoa học, Trường Đại học Cửu Long

* Email: dangxuandao@mku.edu.vn

TÓM TẮT

Chanh dây là nguồn trái cây giàu vitamin C, chất chống oxy hóa và các vi chất thiết yếu hỗ trợ tăng cường hệ miễn dịch. Trong khi đó, mật ong tự nhiên chứa nhiều enzyme, khoáng chất và sở hữu các đặc tính kháng khuẩn mạnh. Sự phối hợp giữa 2 thành phần này không chỉ tạo nên hương vị dễ chịu, thanh mát mà còn mang lại giá trị dinh dưỡng cao, đáp ứng xu hướng tiêu dùng hiện đại hướng đến các sản phẩm an toàn và lành mạnh. Ngoài ra, việc chế biến nước cốt chanh dây mật ong còn góp phần nâng cao giá trị kinh tế cho nông sản địa phương, đồng thời mở rộng tiềm năng phát triển cho ngành công nghiệp thực phẩm và đồ uống. Trong quy trình sản xuất, phần ruột chanh dây được xử lý bằng enzyme Angel pectinase của hãng Angel Yeast (Trung Quốc) ở nồng độ 0,25% trong thời gian 180 phút với nhiệt độ 45°C, pH 4,5. Sau đó, dịch chanh dây được phối trộn với 40% mật ong hoa cà phê Coop Select và 0,3% xanthan gum, tiến hành gia nhiệt ở 100°C, thời gian 5 phút để tạo thành sản phẩm nước cốt chanh dây mật ong hoàn chỉnh.

Từ khóa: Chanh dây, mật ong, pectinase, đồ uống.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chanh dây (*Passiflora edulis*) là một loại trái cây nhiệt đới giàu giá trị dinh dưỡng và ngày càng được ưa chuộng nhờ hương vị đặc trưng, vị chua thanh mát cùng với hàm lượng cao các dưỡng chất có lợi cho sức khỏe. Trái chanh dây đặc biệt nổi bật với hàm lượng vitamin C, chất chống oxy hóa và nhiều khoáng chất thiết yếu như: Kali, magie và sắt, góp phần quan trọng trong việc tăng cường hệ miễn dịch, bảo vệ hệ tim mạch, hỗ trợ tiêu hóa và cải thiện sức khỏe làn da [1]. Bên cạnh đó, mật ong nguyên chất từ lâu đã được biết đến như một thực phẩm tự nhiên có giá trị dược liệu cao, sở hữu các đặc tính kháng khuẩn, chống viêm, đồng thời chứa nhiều enzyme và hợp chất sinh học có lợi cho cơ thể [2].

Trong bối cảnh xu hướng tiêu dùng hiện đại đang dịch chuyển mạnh mẽ sang các sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên, không sử dụng chất bảo quản tổng hợp, an toàn và có lợi cho sức khỏe thì sự kết

hợp giữa chanh dây và mật ong không chỉ tạo nên một hương vị độc đáo, thơm ngon mà còn mở ra tiềm năng lớn trong việc phát triển sản phẩm đồ uống chức năng. Đây là hướng đi tiềm năng giúp nâng cao giá trị gia tăng cho nông sản trong nước, góp phần thúc đẩy tiêu thụ nội địa và từng bước tham gia vào chuỗi giá trị ngành thực phẩm - đồ uống có lợi cho sức khỏe [3, 4].

Tuy nhiên, để tạo ra sản phẩm nước cốt chanh dây mật ong có chất lượng cao, ổn định và phù hợp thị hiếu người tiêu dùng, quy trình công nghệ sản xuất cần được nghiên cứu một cách bài bản và có cơ sở khoa học. Một trong những giải pháp quan trọng giúp nâng cao hiệu quả sản xuất và chất lượng sản phẩm là ứng dụng enzyme pectinase trong quá trình xử lý dịch quả. Enzyme pectinase có khả năng phân giải pectin, thành phần chính trong cấu trúc vách tế bào thực vật, từ đó giúp tăng hiệu suất thu hồi dịch quả, giảm độ nhớt, cải thiện độ trong và nâng cao chất lượng cảm quan của sản

phẩm [5]. Đây là một bước cải tiến công nghệ quan trọng, giúp tối ưu hóa quá trình xử lý nguyên liệu, giảm lãng phí, đồng thời giữ được tối đa các hợp chất có lợi trong dịch quả. Việc bổ sung các phụ gia tự nhiên như xanthan gum và điều chỉnh tỷ lệ phối trộn mật ong không chỉ góp phần tạo độ sánh mịn, ổn định hệ keo, mà còn ảnh hưởng trực tiếp đến màu sắc, hương vị và kết cấu của sản phẩm cuối cùng [6, 7]. Tất cả các yếu tố này đòi hỏi một quy trình sản xuất được xây dựng dựa trên dữ liệu thực nghiệm, có tính tối ưu hóa cao, đảm bảo an toàn thực phẩm, ổn định cảm quan, bảo toàn dinh dưỡng và khả năng ứng dụng quy mô công nghiệp.

Do đó, việc nghiên cứu xác lập quy trình công nghệ sản xuất nước cốt chanh dây mật ong, đặc biệt với ứng dụng enzyme pectinase trong giai đoạn xử lý dịch quả, là hết sức cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn sâu sắc. Nghiên cứu này không chỉ góp phần hoàn thiện công nghệ chế biến trái cây

theo hướng hiện đại, mà còn thúc đẩy giá trị hóa sản phẩm nông nghiệp địa phương, phù hợp với xu hướng phát triển thực phẩm chức năng và đồ uống tiện lợi, lành mạnh trong kỷ nguyên tiêu dùng xanh và bền vững.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương tiện

2.1.1. Nguyên vật liệu

Nghiên cứu được tiến hành trên quả chanh dây tím được thu mua tại phường Đông Thành, tỉnh Vĩnh Long.

Mật ong hoa cà phê Coop Select được mua tại Siêu thị Coopmart, Chi nhánh Vĩnh Long (phường Long Châu, tỉnh Vĩnh Long).

Enzyme pectinase của hãng Angel Yeast (Trung Quốc) được sản xuất từ nấm *Aspergillus niger*, hoạt độ: 60.000 UI/g (tối thiểu) mua tại Công ty TNHH TNKTKH Trung Hải.

Bảng 1. Một số thông số của các nguyên vật liệu sử dụng

Chanh dây tím	Mật ong	Angel pectinase
pH: 2,7	pH: 4,2	Tên khoa học: endo-polygalacturonase
Hàm lượng pectin: 1,75%	Độ ẩm: 21%	Nhiệt độ tối ưu: 40 - 50°C
Độ Brix: 14,2%	Hàm lượng đường khử: 75%	pH tối ưu: 4 - 5
		Nồng độ khuyến cáo: 0,1 - 0,25% tùy theo nguyên liệu sử dụng

Hóa chất citric axit monohydrate 99,5% (Trung Quốc) và xanthan gum Lorann (US) mua tại Công ty TNHH TNKTKH Trung Hải.

2.1.2. Dụng cụ và thiết bị

Dụng cụ. Các dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm.

Thiết bị:

- Bếp điện từ KG20IFP1.
- Cân phân tích OHAUS PAJ102.
- Chiết quang kế ATAGO N-1A.
- Máy đo pH dạng bút Aqua Pal Trans Instruments TP9106.
- Bể ổn nhiệt Memmert, WTB11.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định hiệu suất thu hồi dịch quả chanh dây

Chanh dây, rửa sạch, cắt đôi theo chiều ngang, tách và thu hồi ruột chanh dây, sau đó cân 1.000 g ruột chanh dây, bổ sung chế phẩm enzyme pectinase với nồng độ, nhiệt độ thủy phân và thời gian thủy phân như bố trí thí nghiệm. Sau đó chà, lọc thô dịch chanh dây và tính phần trăm dịch chanh dây thu hồi.

Kết quả được xác định theo công thức:

$$H = (m_2/m_1) \times 100\%.$$

Trong đó: H là hiệu suất thu hồi dịch quả chanh dây (%); m_2 là khối lượng dịch quả chanh

dây thu được sau quá trình thủy phân (g); m_1 là khối lượng ruột quả chanh dây tươi (g) [5].

2.2.2. Phương pháp thực nghiệm xác định các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng nước cốt chanh dây mật ong

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng nước cốt chanh dây mật ong là nồng độ chế phẩm enzyme pectinase, thời gian thủy phân chanh dây, tỷ lệ mật ong và pectin sử dụng trong quá trình phối trộn để sản phẩm có mùi vị và trạng thái tốt nhất khi sử dụng. Các yếu tố thí nghiệm được khảo sát độc lập. Trong đó mỗi một yếu tố sẽ được khảo sát lần lượt tại các mức khác nhau, các yếu tố khác sẽ được cố định tại một giá trị được lựa chọn, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Bảng 2. Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm enzyme pectinase và thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi dịch chanh dây

Các yếu tố thí nghiệm	Các công thức thí nghiệm			
	MĐC	CT-1	CT-2	CT-3
Nồng độ enzyme pectinase (%)	0	0,2	0,25	0,3
Thời gian thủy phân (phút)	0	150	180	210

Ghi chú: MĐC (mẫu đối chứng), CT-1 (công thức 1), CT-2 (công thức 2), CT-3 (công thức 3)

Thí nghiệm 2: Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ mật ong bổ sung đến giá trị cảm quan của nước cốt chanh dây mật ong. Yếu tố cố định là nồng độ enzyme pectinase và thời gian thủy phân tối ưu của thí nghiệm 1, hàm lượng đường saccharose 20%. Chỉ tiêu theo dõi là giá trị cảm quan màu sắc, mùi, vị của sản phẩm nước cốt chanh dây mật ong. Các thí nghiệm này được lặp lại 3 lần và được thể hiện ở bảng 3.

Thí nghiệm 3: Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ xanthan gum bổ sung đến giá trị cảm quan của nước cốt chanh dây mật ong. Yếu tố cố định là nồng độ enzyme pectinase 0,25%, thời gian thủy phân 180 phút, hàm lượng mật ong bổ sung 30%, dùng dung dịch axit citric 10% để điều chỉnh pH

Bảng 4. Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của tỷ lệ xanthan gum bổ sung đến giá trị cảm quan của nước cốt chanh dây mật ong

Yếu tố thí nghiệm	Các công thức thí nghiệm			
	MĐC	CT-1	CT-2	CT-3
Tỷ lệ xanthan gum bổ sung (%)	0	0,1	0,3	0,5

Ghi chú: MĐC (mẫu đối chứng), CT-1 (công thức 1), CT-2 (công thức 2), CT-3 (công thức 3).

Thí nghiệm 1: Xác định ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm enzyme pectinase và thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi dịch chanh dây. Yếu tố cố định là khối lượng ruột chanh dây, loại chế phẩm enzyme pectinase sử dụng, chọn nhiệt độ 45°C, pH 4,5 dựa trên hướng dẫn sử dụng của hãng sản xuất, thông số này cũng phù hợp với nghiên cứu của Pratik và cs (2021) báo cáo hoạt tính tối ưu của pectinase từ *Aspergillus niger* ở pH 4,5 và nhiệt độ 45°C khi nuôi cấy trên phụ phẩm vỏ cam [8]. Sử dụng dung dịch Na_2CO_3 10% để điều chỉnh pH của dịch chanh dây đến giá trị 4,5. Chỉ tiêu theo dõi là hiệu suất thu hồi của dịch chanh dây. Thí nghiệm được bố trí như sau:

đến 3,3. Chỉ tiêu theo dõi là giá trị cảm quan trạng thái của sản phẩm nước cốt chanh dây mật ong. Các thí nghiệm này được lặp lại 3 lần và được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 3. Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của tỷ lệ mật ong bổ sung đến giá trị cảm quan của nước cốt chanh dây mật ong

Yếu tố thí nghiệm	Các công thức thí nghiệm		
	CT-1	CT-2	CT-3
Tỷ lệ mật ong bổ sung (%)	20	30	40

Ghi chú: CT-1 (công thức 1), CT-2 (công thức 2), CT-3 (công thức 3)

2.2.3. Phương pháp xác định một số chỉ tiêu chất lượng của nước cốt chanh dây mật ong

Phân tích cảm quan đối với nước cốt chanh dây pha mật ong được thực hiện thông qua phương pháp mô tả định lượng. Phương pháp này cho phép đánh giá chi tiết các thuộc tính cảm quan của sản phẩm, bao gồm trạng thái, màu sắc, mùi và vị. Một hội đồng gồm chín thành viên đã được tuyển chọn và huấn luyện theo tiêu chuẩn ISO 8586:2023 để làm quen với các đặc điểm cảm quan đặc trưng của mẫu thử. Sau quá trình đào tạo, hội đồng xây dựng thang đo cường độ gồm năm mức nhằm định lượng mức độ cảm nhận của từng chỉ tiêu. Trong quá trình đánh giá, mỗi thành viên được cung cấp mẫu nước cốt chanh dây pha mật ong cùng phiếu đánh giá, từ đó tiến hành chấm

điểm và xác định mức độ cảm quan của từng thuộc tính dựa trên thang đo đã chuẩn hóa [9].

Hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch quả chanh dây được xác định bằng chiết quang kế ATAGO N-1α, đơn vị đo là phần trăm (%) ở nhiệt độ 20°C [10]. Độ pH của dịch chanh dây được đo theo TCVN 12348:2018 [11]. Phương pháp này dựa trên nguyên lý pH là chỉ số biểu thị hoạt độ của ion hydro (H⁺), được xác định thông qua sự chênh lệch điện thế giữa điện cực thủy tinh và điện cực so sánh khi cả hai được nhúng ngập trong mẫu thử.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng nồng độ enzyme pectinase và thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi dịch chanh dây

Bảng 5. Hiệu suất thu hồi dịch chanh dây theo nồng độ enzyme pectinase và thời gian thủy phân (%)

Thời gian xử lý (phút)	Nồng độ enzyme pectinase (%)			
	0,2	0,25	0,3	TBNT
150	78,9 ± 0,5 ^{Ac}	81,3 ± 0,5 ^{Ad}	74,9 ± 0,3 ^{Ab}	78,4 ± 2,8 ^A
180	79,7 ± 0,8 ^{Ac}	82,3 ± 0,3 ^{Bd}	76,5 ± 0,4 ^{Bb}	79,5 ± 2,5 ^B
210	81,1 ± 0,7 ^{Bc}	82,2 ± 0,3 ^{Bd}	76,3 ± 0,3 ^{Bb}	79,9 ± 2,8 ^B
TBNT	79,9 ± 1,1 ^c	81,9 ± 0,6 ^d	75,9 ± 0,6 ^b	

Ghi chú: Giá trị được biểu thị bằng trung bình ± độ lệch chuẩn của phép đo 3 lần lặp lại; các chữ cái khác nhau dạng in hoa trong cùng một cột, dạng in thường trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở độ tin cậy 95%; TBNT là trung bình nghiệm thức.

Bảng 5 cho thấy, nồng độ enzyme pectinase và thời gian thủy phân đều ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi dịch chanh dây. Khi tăng thời gian thủy phân từ 150 - 210 phút, hiệu suất thu hồi có xu hướng tăng ở cả 3 mức nồng độ enzyme, hiệu suất trung bình cao nhất là 81,9% được ghi nhận ở mức 0,25% pectinase, mẫu đối chứng không sử dụng enzyme thủy phân có hiệu suất thu hồi là 68,7%. Cụ thể, tại nồng độ enzyme 0,25%, hiệu suất thu hồi tăng nhẹ theo thời gian, từ 81,3% (150 phút) đến 82,2% (210 phút), cho thấy sự ổn định và hiệu quả của mức enzyme này. Ngược lại, nồng độ 0,3% lại cho hiệu suất thấp nhất (TBNT = 75,9%) dù có thời gian thủy phân tương đương, nguyên nhân có thể là do dư thừa enzyme dẫn đến hiện tượng ức chế hoạt tính hoặc phá vỡ cấu trúc tế bào

không cần thiết, làm giảm hiệu quả trích ly. Xu hướng này cũng được củng cố bởi nghiên cứu của Tapre và Jain (2014) nhận định pectinase giúp phá vỡ cấu trúc pectin, làm giảm độ nhớt và tăng hiệu suất ép trong công nghiệp chế biến trái cây [12]. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Kapilavai và cs (2024) chứng minh việc tối ưu hóa sản xuất enzyme pectinase từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis* có thể tăng hiệu suất thủy phân lên đáng kể, đồng thời giảm chi phí nguyên liệu [13]. Pratik (2021) cũng ghi nhận hoạt tính cao của enzyme pectinase chiết xuất từ *Aspergillus niger* khi được nuôi cấy trên vỏ cam, gợi mở tiềm năng tận dụng phụ phẩm nông nghiệp để sản xuất enzyme [14]. Dựa trên dữ liệu đã phân tích và bàn luận từ cả nghiên cứu trong nước và quốc tế, điều

kiện tối ưu cho thí nghiệm thu hồi dịch chanh dây bằng enzyme pectinase là nồng độ enzyme pectinase 0,25%, thời gian thủy phân 180 phút.

Mặc dù nhiều nghiên cứu cho thấy, phối hợp enzyme pectinase với cellulase và hemicellulase giúp tăng hiệu suất trích ly, trong nghiên cứu này chỉ sử dụng pectinase vì ruột chanh dây chứa ít cellulose, không cần phá vỡ toàn bộ cấu trúc tế bào. Phá vỡ quá mức cấu trúc thành tế bào bởi hỗn hợp đa enzyme có thể sinh ra các hợp chất phụ như đường trung gian, aldehyde hoặc glycoside, ảnh hưởng đến màu sắc và hương vị đặc trưng của nước cốt chanh dây - vốn là các yếu tố cảm quan then chốt ảnh hưởng đến khả năng chấp nhận sản phẩm của người tiêu dùng [15]. Hơn nữa, sử dụng pectinase đơn độc giúp đơn giản hóa điều kiện phản ứng, dễ kiểm soát và giảm chi phí sản xuất

trong khi hiệu suất thu hồi dịch quả vẫn đạt mức cao (82,3%) ở điều kiện tối ưu.

3.2. Ảnh hưởng tỷ lệ mật ong đến giá trị cảm quan nước cốt chanh dây mật ong

Bảng 6 cho thấy, sau khi cho 20% đường saccharose và thêm mật ong thì tỷ lệ mật ong bổ sung khác nhau ở các mẫu có ảnh hưởng rõ rệt đến chất lượng cảm quan của nước cốt chanh dây mật ong, bao gồm các yếu tố màu sắc, mùi và vị. Cụ thể, tỷ lệ 30% mật ong cho điểm cảm quan cao nhất ở cả ba tiêu chí: Màu sắc (4,61), mùi (4,60) và vị (4,74). Tỷ lệ này giúp sản phẩm giữ được màu vàng sáng đặc trưng, đồng thời tăng cường hương thơm và độ ngọt một cách hài hòa mà không làm mất đi tính tươi mát vốn có của chanh dây.

Bảng 6. Điểm cảm quan của nước cốt chanh dây mật ong theo tỷ lệ mật ong (%)

Tỷ lệ mật ong (%)	Điểm cảm quan		
	Màu sắc	Mùi	Vị
20	4,64 ± 0,3 ^a	3,41 ± 0,6 ^c	3,44 ± 0,3 ^c
30	4,61 ± 0,5 ^a	4,60 ± 0,3 ^a	4,74 ± 0,4 ^a
40	4,0 ± 0,3 ^b	4,56 ± 0,4 ^b	4,42 ± 0,3 ^b

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, các giá trị có các chữ cái khác nhau đánh kèm trong cùng cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức 5%.

Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu của Rocha và Bolini (2015) nhấn mạnh rằng mức độ ngọt vừa phải là chìa khóa để nâng cao khả năng chấp nhận cảm quan, trong khi dư vị ngọt kéo dài có thể gây phản ứng tiêu cực từ người tiêu dùng [16]. Deliza và cs (2005) sử dụng phương pháp đánh giá Free-Choice Profiling cho thấy, các thuộc tính như “hương thơm tự nhiên” và “sắc thái tươi mát” là yếu tố hàng đầu ảnh hưởng đến cảm nhận tích cực về nước chanh dây. Điều này giải thích vì sao mẫu 30% có sự cân bằng tốt nhất giữa mùi hương mật ong và chanh dây [17].

Từ kết quả đánh giá cảm quan và tham khảo các nghiên cứu liên quan có thể kết luận tỷ lệ 30% mật ong bổ sung là điều kiện tối ưu cho sản phẩm nước cốt chanh dây mật ong, giúp cân bằng hài hòa giữa màu sắc tự nhiên, hương thơm dễ chịu và vị chua ngọt hấp dẫn. Sự đồng thuận giữa dữ liệu

thực nghiệm và các kết luận khoa học trước đó góp phần khẳng định tính khả thi của tỷ lệ này cho ứng dụng thực tiễn trong sản xuất đồ uống có giá trị cảm quan cao.

3.3. Ảnh hưởng tỷ lệ xanthan gum đến giá trị cảm quan trạng thái nước cốt chanh dây mật ong

Bảng cho thấy, tác động của xanthan gum đến chất lượng vật lý và trải nghiệm khi sử dụng nước cốt chanh dây mật ong sau 3 ngày kể từ khi sản xuất. Mẫu đối chứng không có xanthan gum (0%) chỉ đạt 2,24 điểm, phản ánh trạng thái loãng, dễ phân lớp và cảm giác uống thiếu mượt mà. Điều này phù hợp với mô tả của Chaturvedi và cs (2021), cho rằng, hệ thực phẩm lỏng không có chất ổn định thường kém đồng nhất, nhanh phân pha và để lại cảm giác không dễ chịu khi uống [18]. Khi bổ sung 0,1% xanthan gum, điểm cảm quan tăng lên 3,22 cho thấy, cải thiện rõ rệt về độ

đồng nhất và độ sánh nhẹ, tuy nhiên vẫn còn hiện tượng phân lớp nhẹ sau pha loãng và cảm giác uống chưa tròn vị. Theo Singh và cs (2021), nồng độ xanthan dưới 0,2% thường chỉ đủ để cải thiện bước đầu về độ nhớt mà chưa thể tạo kết cấu ổn định bền vững [19].

Bảng 7. Điểm cảm quan trạng thái của nước cốt chanh dây mật ong theo tỷ lệ xanthan gum bổ sung (%)

Tỷ lệ xanthan gum (%)	Điểm cảm quan trạng thái
0	2,24 ± 0,3 ^d
0,1	3,22 ± 0,4 ^c
0,3	4,92 ± 0,3 ^a
0,5	4,07 ± 0,5 ^b

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, các giá trị có các chữ cái khác nhau đánh kèm trong cùng cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức 5%.

Đáng chú ý, mẫu có 0,3% xanthan gum đạt điểm cảm quan cao nhất 4,92, cho thấy sự đồng nhất hoàn hảo, mượt miệng khi uống và giữ ổn định sau pha loãng. Nghiên cứu của Nagwa và cs (2020) cũng cho thấy, các sản phẩm nước trái cây khi được bổ sung xanthan gum ở mức 0,3 - 0,4% đạt độ “creaminess” (mịn miệng) lý tưởng mà vẫn duy trì độ tươi mát và dễ tiêu thụ [20]. Tuy nhiên, khi tăng lên 0,5% xanthan gum, điểm cảm quan giảm xuống còn 4,07, do sản phẩm trở nên đặc hơn mức mong muốn, gây cảm giác dính và nặng miệng. Đây cũng là điều mà Chaturvedi và cs (2021) đã lưu ý khi xanthan gum vượt quá mức tối ưu, tính chất lưu biến của sản phẩm thay đổi theo chiều hướng không mong muốn, ảnh hưởng đến sự chấp nhận của người tiêu dùng [18].

Từ các kết quả trên, có thể khẳng định rằng việc bổ sung 0,3% xanthan gum là tối ưu, vừa đảm bảo trạng thái vật lý ổn định, hạn chế phân lớp sau pha loãng, vừa mang lại điểm cảm quan cao nhất nhờ trải nghiệm uống mượt và tự nhiên.

3.4. Một số chỉ tiêu chất lượng của nước cốt chanh dây mật ong

Việc xác định chỉ tiêu chất lượng của nước cốt chanh dây mật ong có ý nghĩa rất quan trọng, là cơ

sở khoa học để lựa chọn đưa vào chế biến, giúp chất lượng sản phẩm đạt yêu cầu và đồng nhất (Bảng 8). Kết quả đánh giá cho thấy, nước cốt đạt tiêu chuẩn cao về cảm quan và thành phần hóa lý: Màu vàng cam đậm bắt mắt (4,61 điểm), mùi thơm đặc trưng (4,60 điểm), vị ngọt hài hòa với chua thanh (4,74 điểm), trạng thái đồng nhất gần như tuyệt đối (4,92 điểm). Các chỉ tiêu hóa lý như độ Brix cao (49,86%), pH ở mức 3,3 và chỉ số axit tương đối thấp (0,28%) phản ánh được sự cân bằng tốt giữa độ ngọt và độ chua, tạo nên sản phẩm hấp dẫn và ổn định.

Bảng 8. Một số chỉ tiêu chất lượng của nước cốt chanh dây mật ong

Một số chỉ tiêu chất lượng	Kết quả đánh giá
Màu sắc	4,61
	Màu vàng cam đậm
Mùi	4,60
	Mùi thơm rất đặc trưng
Vị	4,74
	Vị ngọt xen lẫn với vị chua thanh
Trạng thái	4,92
	Dịch đồng nhất
Chất khô hòa tan (°Bx)	59,86%
Độ pH	3,3
Chỉ số axit (quy về axit citric) (%)	0,28
Đường tổng (%)	52,78

Dựa vào các thông số này, bảng hướng dẫn pha loãng (Bảng 9) đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa trải nghiệm người tiêu dùng theo từng sở thích và mục đích sử dụng khác nhau. Cụ thể, mức pha loãng 2 lần tạo ra vị rất đậm đà, thích hợp để dùng với đá trong thời tiết nóng; trong khi pha 3 - 3,5 lần cho ra sản phẩm có vị nhẹ nhàng, dễ uống, phù hợp với người không thích quá ngọt hoặc dùng cho mục đích phổ thông.

Tổng thể, việc đánh giá chỉ tiêu chất lượng và xây dựng hướng dẫn pha loãng không chỉ giúp tiêu chuẩn hóa sản phẩm mà còn nâng cao giá trị cảm nhận và sự tiện dụng, đáp ứng nhu cầu đa dạng của người tiêu dùng.

Bảng 9. Hướng dẫn các mức pha loãng nước cốt chanh dây mật ong

Pha loãng (Lần)	Hàm lượng chất khô (%)	Đường tổng (% w/w)	pH	Cảm nhận vị
2	29,93	26,39	3,5	Rất đậm đà, có thể hơi ngọt, thích hợp uống đá
2,5	23,9	21,11	3,6 - 3,7	Đậm vừa, vị hài hòa, thích hợp uống lạnh
3	20,0	17,59	3,7 - 3,8	Vị vừa, dễ uống, phù hợp đại trà
3,5	17,1	15,08	3,9	Vị hơi nhạt nhẹ, phù hợp người không thích ngọt
4	15,0	13,2	4,0	Nhạt, mùi nhẹ

4. KẾT LUẬN

Quy trình sản xuất nước cốt chanh dây mật ong tối ưu được xác lập với ba yếu tố kỹ thuật chính: Sử dụng enzyme pectinase ở nồng độ 0,25% trong 180 phút thủy phân để thu hồi dịch chanh dây hiệu quả; bổ sung 30% mật ong nhằm đạt được chất lượng cảm quan hài hòa giữa màu sắc, mùi và vị; thêm 0,3% xanthan gum để ổn định trạng thái sản phẩm, đảm bảo độ đồng nhất và trải nghiệm uống mượt mà. Sản phẩm cuối cùng không chỉ có giá trị dinh dưỡng cao với màu sắc và mùi vị đặc trưng, mà còn đạt các chỉ tiêu hóa lý tiêu chuẩn như: Độ Brix 49,86%, pH 3,3 và trạng thái ổn định. Quy trình này góp phần nâng cao giá trị nông sản địa phương và mở ra hướng đi mới cho ngành công nghiệp đồ uống lành mạnh, tự nhiên và tiện lợi, phù hợp với xu hướng tiêu dùng hiện đại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. R. Thokchom and G. Mandal (2020). Production preference and importance of passion fruit (*Passiflora edulis*): A review. *Journal of Agricultural Engineering and Food Technology*, 4, 27 - 30.
2. M. C. Ogburn and S. C. Izah (2025). Honey as a natural antimicrobial. *Antibiotics (Basel)*, 14(3), 255.
3. K. Yevheniia (2021). Bio-based preservatives: A natural alternative to synthetic additives. *International Journal of Science and Research Archive*, 1(2), 56 - 70. <https://doi.org/10.30574/ijrsra.2021.1.2.0008>
4. I. B. Leite, C. D. Magalhaes, M. Monteiro and E. Fialho (2021). Addition of honey to an apple and passion fruit mixed beverage improves its phenolic compound profile. *Foods*, 10(7), 1525.

5. Nguyễn Nhật Minh Phương, Chế Văn Hoàng, Lý Nguyễn Bình, Châu Trần Diễn Ái (2011). Tác động enzyme pectinase đến khả năng trích ly dịch quả và các điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau thời gian lên men chính. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, (20a), 127 - 136.

6. M. Rastegarpour, H. Hakimi, N. Chamaani, M. J. Marand, F. Zendeboodi, S. Sohrabvandi and E. Khanniri (2025). Application of various hydrocolloids in fruit-based beverages to improve their properties: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 14(4), 1216 - 1220.

7. Mohammadi, M., Mahdavi-Yekta, M., Reihani, S. F. S., Khorshidian, N., Habibi, M. & Mousavi Khaneghah, A. (2024). Assessment of Physicochemical Properties of Orange Juice Concentrate Formulated with Pectin, Xanthan, and CMC Hydrocolloids. *International Journal of Food Science*, 57(11), 4173 - 4182.

8. K. Pratik et al. (2021). Extraction, purification and enzyme assay of pectinase enzyme from *Aspergillus niger*. *International Journal of Recent Scientific Research in Engineering and Technology*, 9(1), 77 - 83.

9. International Organization for Standardization. (2023). ISO 8586:2023 *Sensory analysis - General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors*. <https://www.iso.org/standard/76500.html>

10. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4414:1987. Đồ hộp - Xác định hàm lượng chất khô hòa tan bằng khúc xạ kế.

11. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 12348:2018. Thực phẩm đã axit hóa - Xác định pH.

12. A. R. Tapre and R. K. Jain. (2014). Pectinases: Enzymes for fruit processing industry. *International Food Research Journal*, 21(2), 447 - 453.
13. S. Kapilavai, R. R. Aluru and C. Chanda (2024). Purification and production optimization of bacterial pectinases using fruit waste. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 14(4), 1216 -1220. <https://doi.org/10.5530/ijpi.14.4.133>
14. K. Pratik, K. Bhav and C. Neha (2021). Extraction, purification and enzyme assay of pectinase enzyme from *Aspergillus niger*. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, 9(1), 77 - 83. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2021.32733>.
15. Deliza, R., MacFie, H. & Hedderley, D. (2005). The consumer sensory perception of passion-fruit juice using free-choice profiling. *Journal of Sensory Studies*, 20(1), 17 - 27.
16. I. F. Rocha and H. M. A. Bolini (2015). Sensory profile and acceptance of passion fruit juice. *Food Science & Nutrition*, 3(2), 129 - 139.
17. R. Deliza, H. MacFie and H. Duncan. (2005). The consumer sensory perception of passion - fruit juice using free - choice profiling. *Journal of Sensory Studies*, 20(1), 17 - 27. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2005.050604.x>
18. S. Chaturvedi Kulshrestha, K. Bhardwaj and R. Jangir (2021). A review on properties and applications of xanthan gum. In A. Vaishnav & D. K. Choudhary (Eds.), *Microbial polymers: Applications and ecological perspectives*, 87–107.
19. S. R. Bhumi, V. Ajit, C. K. Amit and S. Jasvir (2021). Production of xanthan gum from agro-industrial waste substrate and its wide industrial applications. *Ecology, Environment and Conservation*, 27(4), 1638 - 1644.
20. M. S. Nagwa, M. A. Hemmat, F. G. Gihan and S. A. A. Aya. (2020). Xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 as a food thickening agent. *Current Science International*, 9(4), 565 - 582.

RESEARCH ON THE TECHNOLOGICAL PROCESS OF PRODUCING HONEY PASSION FRUIT JUICE (*Passiflora edulis*)

Dang Xuan Dao¹, Tran Hoang Ai¹, Tran Ngoc Diep²,

Nguyen Ngoc Nhi³, Nguyen Ngoc Qui³

¹Faculty of Agriculture and Fisheries, Cuu Long University

²Institute of Food and Biotechnology Technology, Cuu Long University

³Department of Scientific Management, Cuu Long University

Abstract

Passion fruit is a rich source of vitamin C, antioxidants, and essential micronutrients that help strengthen the immune system. Meanwhile, natural honey contains a variety of enzymes, minerals, strong antibacterial properties. The combination of these two ingredients not only delivers a pleasant, refreshing taste but also offers high nutritional value, aligning with modern consumer trends that prioritize safe and healthy products. Additionally, the production of passion fruit and honey concentrate contributes to enhancing the economic value of local agricultural products and expanding development potential for the food and beverage industry. In the production process, the passion fruit pulp was treated with Angel pectinase enzyme (Angel Yeast, China) at a concentration of 0.25% for 180 minutes at 45°C and pH 4.5. Subsequently, the extracted juice was blended with 40% Coop Select coffee blossom honey and 0.3% xanthan gum, then heated at 100°C for 5 minutes to obtain the final honey passion fruit concentrate product.

Keywords: *Passion fruit, honey, pectinase, beverage.*

Ngày nhận bài: 15/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 10/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 20/7/2025

Ngày duyệt đăng: 4/8/2025

TÁC ĐỘNG CỦA SÓNG SIÊU ÂM ĐẾN QUÁ TRÌNH LÊN MEN ĐỒ UỐNG PROBIOTIC TỪ QUẢ ỔI ĐÔNG DƯ

Nguyễn Đức Tiến¹*, Nguyễn Thị Huyền¹

¹ Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

*Email: nguyenductienvcd@gmail.com

TÓM TẮT

Lactobacillus plantarum là một loài vi khuẩn probiotic được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất thực phẩm lên men nhờ khả năng hỗ trợ tiêu hóa và tăng cường miễn dịch. Ổi Đông Dư (*Psidium guajava*), một giống ổi đặc sản địa phương tại xã Gia Lâm, thành phố Hà Nội, chứa hàm lượng cao các hợp chất hoạt tính sinh học như: Polyphenol, vitamin C và axit hữu cơ, là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho sản xuất đồ uống probiotic giàu giá trị dinh dưỡng và cảm quan. Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của sóng siêu âm đến quá trình lên men nước ép quả ổi Đông Dư bằng chủng *Lactobacillus plantarum* T1.9, tập trung vào các chỉ tiêu: Mật độ tế bào probiotic, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) và chất lượng cảm quan sản phẩm. Các yếu tố khảo sát gồm: Cường độ siêu âm từ 0 - 1,5 W/cm² ở tần số 20 kHz, thời gian xử lý siêu âm từ 0 - 180 giây, thời điểm xử lý siêu âm từ 21 - 33 giờ sau khi cấy giống và thời gian lên men từ 0 - 73 giờ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, điều kiện xử lý siêu âm tối ưu là 0,9 W/cm² trong 120 giây tại thời điểm 29 giờ sau cấy giống, giúp rút ngắn thời gian lên men còn 41 giờ nhưng vẫn đạt mật độ tế bào 6,3 x 10⁸ CFU/mL và hoạt tính DPPH đạt 72,36%, cao hơn 1,23 lần so với mẫu đối chứng. Đánh giá cảm quan cho thấy, sản phẩm giữ được hương vị đặc trưng của ổi, vị chua, ngọt hài hòa và đạt tổng điểm cảm quan 18,72/20, phản ánh mức độ chấp nhận cao từ người tiêu dùng. Kết quả nghiên cứu khẳng định tiềm năng ứng dụng công nghệ siêu âm trong sản xuất đồ uống probiotic từ nguyên liệu bản địa, góp phần nâng cao hiệu quả lên men, giá trị sinh học và cảm quan sản phẩm.

Từ khóa: Đồ uống probiotic, *Lactobacillus plantarum*, lên men, ổi Đông Dư, sóng siêu âm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, người tiêu dùng ngày càng quan tâm đến mối liên hệ giữa chế độ dinh dưỡng và sức khỏe, từ đó thúc đẩy sự phát triển mạnh mẽ của ngành thực phẩm chức năng, đặc biệt là các sản phẩm chứa vi sinh vật có lợi (probiotic) [1]. Probiotic là những vi sinh vật sống, khi được bổ sung với liều lượng thích hợp, mang lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ, như cân bằng hệ vi sinh đường ruột, tăng cường miễn dịch, hỗ trợ tiêu hóa và phòng ngừa nhiều bệnh lý mạn tính [1, 2]. Tuy nhiên, hầu hết sản phẩm probiotic hiện nay được lên men từ sữa, dẫn đến hạn chế trong việc tiêu dùng đối với người không dung nạp lactose, người ăn chay hoặc người có nhu cầu sử dụng sản phẩm nguồn gốc thực vật. Đồ uống probiotic từ thực vật, đặc biệt là từ nước ép trái cây, đang nổi

lên như một xu hướng thay thế đầy tiềm năng nhờ chứa nhiều vitamin, khoáng chất, hợp chất chống oxy hóa và chất xơ [2, 3]. Trong số các nguyên liệu thực vật, quả ổi Đông Dư (*Psidium guajava* L.), một đặc sản địa phương của xã Gia Lâm, thành phố Hà Nội, được biết đến với hàm lượng cao vitamin C, polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa mạnh, đây là nguồn nguyên liệu phù hợp để phát triển đồ uống probiotic từ thực vật giàu giá trị sinh học. Tuy nhiên, quá trình lên men lactic truyền thống thường thời gian lên men kéo dài và đòi hỏi điều kiện kiểm soát chặt chẽ về pH, nhiệt độ, vô trùng..., gây trở ngại cho việc mở rộng sản xuất và ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan sản phẩm. Do đó, cần nghiên cứu các giải pháp kỹ thuật mới nhằm rút ngắn thời gian lên

men và nâng cao hiệu quả sinh học của sản phẩm. Công nghệ siêu âm là một hướng đi mới đầy hứa hẹn trong lĩnh vực chế biến thực phẩm nhờ khả năng tạo ra hiệu ứng tạo bong bóng khí vi mô chân không bằng sóng siêu âm (cavitation) giúp tăng tính thấm màng tế bào, kích thích hoạt tính enzyme và thúc đẩy quá trình trao đổi chất của vi sinh vật [4]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, siêu âm không chỉ tăng sinh khối vi khuẩn probiotic mà còn nâng cao hàm lượng hợp chất phenolic, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa trong các sản phẩm lên men thực vật. Đặc biệt, siêu âm ở cường độ thấp có thể kích thích sinh trưởng, hoạt tính sinh học và khả năng thích nghi của vi khuẩn *Lactiplantibacillus plantarum* trong giai đoạn sinh trưởng lũy thừa (logarit), từ đó nâng cao hiệu quả lên men [5]. Một số cơ chế đưa ra là hiệu ứng cơ học và xâm thực của siêu âm làm thay đổi tính thấm màng tế bào, mở các kênh vận chuyển ion và tín hiệu nội bào, kích hoạt tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp [6]. Ngoài ra, siêu âm còn được chứng minh có thể tăng cường khả năng hình thành màng sinh học và bám dính của vi khuẩn probiotic trong môi trường thực vật [5]. *Lactobacillus plantarum*, hiện được phân loại là *Lactiplantibacillus plantarum*, là một vi khuẩn lactic có khả năng sống sót cao, chịu được nhiều điều kiện môi trường khắc nghiệt và được công nhận là probiotic tiềm năng. Tại Việt Nam, loài này đã được ứng dụng trong lên men các sản phẩm như sữa chua, nem chua chay và nước ép trái cây [7]. Tuy nhiên, các nghiên cứu ứng dụng công nghệ siêu âm trong lên men nước ép quả ổi Đông Dư vẫn còn rất hạn chế.

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của xử lý siêu âm tần số 20 kHz đến quá trình lên men nước ép quả ổi Đông Dư bằng chủng *L. plantarum* T1.9. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: Mật độ tế bào sau lên men, độ pH, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) và chất lượng cảm quan của sản phẩm, làm cơ sở khoa học cho việc ứng dụng công nghệ siêu âm trong sản xuất đồ uống probiotic từ nguyên liệu bản địa giàu hoạt chất sinh học.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu và vi sinh vật

- Nguyên liệu thực vật: Quả ổi Đông Dư (*Psidium guajava*) được thu mua tại xã Gia Lâm, thành phố Hà Nội. Nguyên liệu được thu hái đồng loạt theo cùng điều kiện sản xuất, chọn quả chín, còn tươi, màu sắc đẹp, không bị dập nát, vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 12 giờ sau thu hái.

- Chủng vi sinh vật: Chủng *Lactobacillus plantarum* T1.9 (*L. plantarum* T1.9) được cung cấp bởi Bộ môn Công nghệ Sinh học sau thu hoạch và Hợp chất thiên nhiên, Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch, Bộ Nông nghiệp và Môi trường. Chủng được bảo quản lâu dài trong dung dịch glycerol 10% ở -18°C. Trước khi thí nghiệm, chủng được hoạt hóa và nhân giống theo quy trình mô tả tại mục 2.2.2.

2.1.2. Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: Gồm axit citric, NaHCO₃, NaCl (Trung Quốc)...; thiết bị: Máy siêu âm TJS-3000 V6.0, máy đo mật độ quang (Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech), máy sấy Grot DZ 47-63, cân phân tích Precisa XT 320M (Thụy Sĩ), cân kỹ thuật OHAUS Cent-0-Gram (Mỹ), thiết bị đo pH và Brix kế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

Quả ổi Đông Dư tươi được lấy mẫu theo hướng dẫn Codex CAC/GL 50-2004 [8]. Mỗi đợt thực nghiệm sử dụng khoảng 40 kg ổi, đóng trong sọt nhựa (10 kg/sọt), vận chuyển về phòng thí nghiệm trong 12 giờ. Sau đó, nguyên liệu được loại bỏ dị vật, rửa sạch, cắt nhỏ, nghiền và xay nhuyễn với nước (tỷ lệ 1: 1 w/v). Hỗn hợp sau nghiền được ép lọc qua vải lọc để thu dịch quả (nước ép quả ổi Đông Dư). Nước ép thu được sau lọc được điều chỉnh pH về 5,5 bằng axit citric và hiệu chỉnh độ Brix về 8,4°Bx. Trong mỗi mẻ thí nghiệm, khoảng 30 L nước ép quả ổi Đông Dư được chuẩn bị. Sau đó, nước ép được chia đều vào các bình tam giác có dung tích 500 mL, mỗi bình chứa 300 mL dịch. Các mẫu được thanh trùng ở 95°C trong 15 phút,

sau đó làm nguội nhanh về 30°C. Dịch nước ép này được sử dụng cho quá trình lên men.

2.2.2. Chuẩn bị giống

Chủng *L. plantarum* T1.9 được hoạt hóa (từ ống bảo quản đông glycerol 10% ở nhiệt độ -18°C) bằng cách cấy chuyển 100 µL vào 10 mL môi trường MRS broth vô trùng, nuôi lắc ở nhiệt độ 37 ± 1°C trong 22 giờ để thu sinh khối vi khuẩn, tạo thành giống cấp 1. Sau đó, 1 mL dịch giống cấp 1 được cấy chuyển vào 100 mL môi trường MRS broth, tiếp tục nuôi ở nhiệt độ 37 ± 1°C trong 22 giờ để thu giống cấp 2 có mật độ tế bào đạt khoảng 10⁹ CFU/mL. Dịch nuôi được ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 20 phút (ở nhiệt độ 4°C), sinh khối thu được rửa 2 lần bằng dung dịch NaCl 0,85% vô trùng, rồi hoàn nguyên về thể tích ban đầu bằng dung dịch đệm. Mật độ tế bào của giống cấp 2 được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc sau pha loãng thập phân trên môi trường MRS agar. Dịch giống sau khi chuẩn bị được bảo quản tạm thời ở nhiệt độ 5°C và sử dụng trong vòng 24 giờ để đảm bảo hoạt tính sinh học và khả năng sống của tế bào vi sinh vật [9].

2.2.3. Lên men

Lên men được tiến hành trong điều kiện lên men chìm (300 ml nước ép quả ổi Đông Dư/bình tam giác 500 ml), cấy giống *L. plantarum* T1.9 được cấy vào dịch lên men với tỷ lệ 1% (v/v) với đạt mật độ ban đầu khoảng 10⁶ CFU/mL.

Quá trình lên men được tiến hành ở nhiệt độ lên men 37 ± 1°C trong điều kiện không khuấy, trong môi trường yếm khí tự nhiên (đậy kín bằng nút bông tiệt trùng nhưng không cấp khí).

- *Xử lý siêu âm trong quá trình lên men:* Quá trình xử lý siêu âm được thực hiện bằng thiết bị siêu âm TJS-3000 V6.0 (dung tích bể siêu âm 60 L, tần số hoạt động 20 kHz). Trước khi xử lý, bể được bơm 30 L nước và duy trì nhiệt độ ổn định ở 37 ± 1°C nhờ hệ thống điều nhiệt tích hợp. Bình tam giác chứa dịch lên men được cố định bằng giá đỡ tại vị trí trung tâm buồng siêu âm nhằm đảm bảo phân bố năng lượng siêu âm đồng đều. Các yếu tố khảo sát bao gồm: Cường độ siêu âm (W/cm²), thời gian xử lý (giây) và thời điểm xử lý (giờ lên men) nhằm xác định điều kiện tối ưu cho từng thí

nghiệm. Mỗi tổ hợp thí nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo độ tin cậy của kết quả. Sau xử lý, các mẫu được chuyển về buồng lên men có kiểm soát nhiệt độ (37 ± 1°C) và tiếp tục lên men đến khi kết thúc.

- Trong quá trình lên men được lấy mẫu định kỳ để theo dõi mật độ tế bào, pH, hoạt tính chống oxy hóa và các chỉ tiêu cảm quan.

2.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của cường độ siêu âm

Sau 29 giờ lên men nước ép quả ổi Đông Dư, các mẫu được xử lý siêu âm trong 120 giây ở các mức cường độ siêu âm: 0 (đối chứng); 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 W/cm² ở tần số 20 kHz. Quá trình lên men tiếp đến 42 giờ, sau đó tiến hành xác định mật độ tế bào và hoạt tính chống oxy hóa DPPH.

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian xử lý siêu âm

Mẫu được xử lý ở cường độ siêu âm 0,9 W/cm², tần số 20 kHz trong các khoảng thời gian: 0 (đối chứng), 60, 90, 120, 150 và 180 giây, sau đó lên men tiếp đến 42 giờ để đánh giá mật độ tế bào và hoạt tính DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men.

2.2.6. Khảo sát thời điểm xử lý siêu âm

Thiết lập xử lý siêu âm tại các thời điểm: 21, 23, 25, 27, 29, 31 và 33 giờ lên men. Điều kiện siêu âm: 0,9 W/cm², 20 kHz và siêu âm 120 giây. Sau xử lý, tiếp tục lên men đến 42 giờ và phân tích đánh giá mật độ tế bào và hoạt tính DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men.

2.2.7. Khảo sát thời gian lên men

Lên men nước ép quả ổi Đông Dư kéo dài thời gian đến 73 giờ, siêu âm được áp dụng tại 29 giờ sau lên men (xử lý siêu âm 0,9 W/cm², 20 kHz, 150 giây). Mẫu được lấy tại các thời điểm: 0, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69 và 73 giờ lên men để đánh giá mật độ tế bào, DPPH và cảm quan của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men.

2.3. Các phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định pH và độ Brix

pH được đo bằng máy đo pH, độ Brix xác định bằng khúc xạ kế cầm tay, áp dụng theo AOAC (2019) [10] và Ranganna (1986) [11].

2.3.2. Đánh giá khả năng chống oxy hóa (DPPH)

Phương pháp dựa trên việc khử gốc DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 550 nm sau 30 phút phản ứng ở nhiệt độ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ trong bóng tối [12, 13]. Công thức tính phần trăm khả năng ức chế gốc tự do DPPH:

$$\text{DPPH bị ức chế} = ((A_{\text{blank}} - A_{\text{mẫu}}) / A_{\text{blank}}) \times 100$$

2.3.3. Xác định mật độ vi khuẩn

Mật độ tế bào được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường MRS-agar, theo ISO 15214:1998 [9].

2.3.4. Đánh giá cảm quan

Sử dụng phương pháp cho điểm theo TCVN 7041:2009 [14]. Tham khảo bổ sung theo hướng dẫn đánh giá cảm quan thực phẩm của Stone và Sidel (2004) [15].

2.3.5. Xử lý số liệu

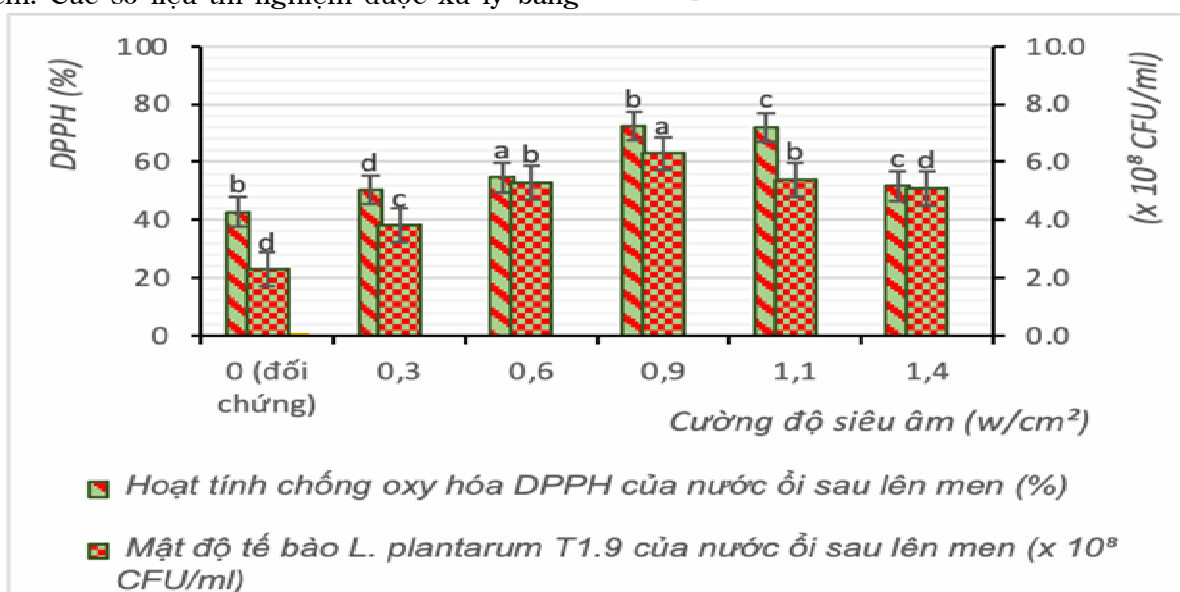
Mỗi thí nghiệm đều tiến hành lặp lại 3 lần độc lập, số liệu là kết quả trung bình của các lần thí nghiệm. Các số liệu thí nghiệm được xử lý bằng

phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA) để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình so sánh bằng LSD, có ý nghĩa với độ tin cậy $P < 0,05$. Sử dụng phần mềm Statgraphics Plus, version 5.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của cường độ sóng siêu âm trong quá trình lên men đến mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men

Nghiên cứu tối ưu cường độ siêu âm là yếu tố quan trọng trong quá trình nuôi cấy thu mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men. Theo Krasovitski và cs (2011) [16], Nếu cường độ siêu âm quá cao, năng lượng cơ học lớn có thể phá vỡ cấu trúc tế bào, gây tổn thương đến các đại phân tử sinh học hoặc dẫn đến sự chết của tế bào. Ngược lại, nếu cường độ siêu âm quá thấp, chỉ tạo ra các bọt khí vi mô trong môi trường chân không mà không đủ khả năng tác động lên tế bào để thể kích thích hoạt động của vi sinh vật, do đó hiệu quả sinh học đạt được sẽ bị hạn chế [16-18].



Hình 1. Ảnh hưởng cường độ sóng siêu âm trong quá trình lên men đến mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men

Ghi chú: Những chữ cái (a, b) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

Hình 1 cho thấy, tác động của các cường độ năng lượng siêu âm khác nhau đối với mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men: Các mức cường độ siêu âm khác nhau sẽ thu

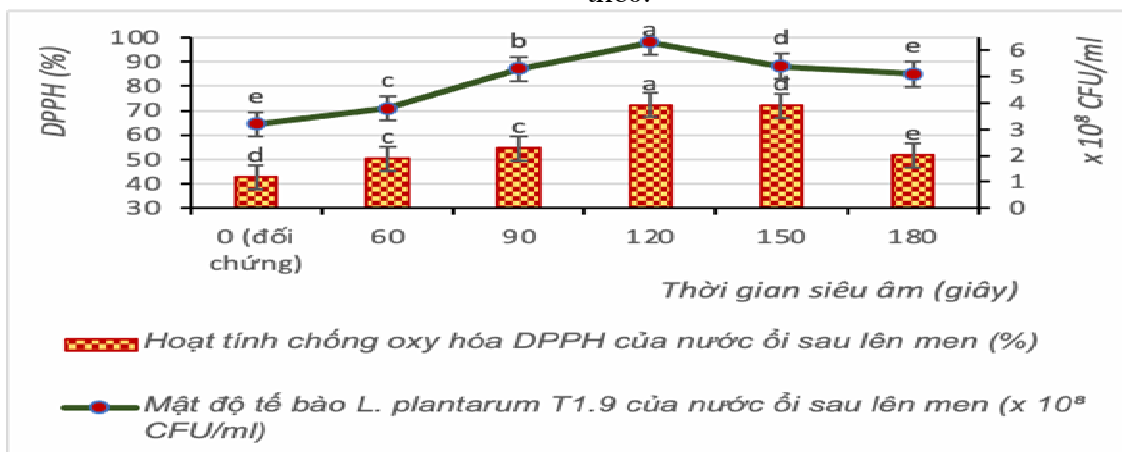
được mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH hóa khác nhau ở mức ý nghĩa 5%. Các giá trị cao nhất của mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men

lần lượt là $6,3 \times 10^8$ CFU/ml và 69,81% được quan sát thấy ở cường độ siêu âm là $0,9 \text{ W/cm}^2$. Khi tăng cường độ siêu âm lên $1,1 \text{ W/cm}^2$, mật độ tế bào của chủng *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men có hướng giảm, tiếp tục tăng cường độ siêu âm lên $1,4 \text{ W/cm}^2$, mật độ tế bào giảm còn $4,6 \times 10^8$ CFU/mL và hoạt tính chống oxy hóa DPPH chỉ đạt 55,95%, thấp hơn đáng kể so với mẫu siêu âm ở cường độ sóng siêu âm $0,9 \text{ W/cm}^2$.

Ở cường độ siêu âm thấp hơn ($0,3$ và $0,6 \text{ W/cm}^2$), kết quả cho thấy có sự cải thiện nhẹ về mật độ tế bào và hoạt tính DPPH so với đối chứng không siêu âm, tuy nhiên vẫn thấp hơn so với mẫu xử lý ở $0,9 \text{ W/cm}^2$. Điều này có thể do năng lượng sóng siêu âm ở mức thấp chưa đủ để tạo ra hiệu ứng tạo bong bóng khí vi mô chân không bằng sóng siêu âm đủ mạnh dẫn đến tác động kích thích tế bào của vi khuẩn còn hạn chế [4, 19]. Cơ chế tác động tích cực ở cường độ sóng siêu âm phù hợp có thể liên quan đến việc tăng tính thấm màng tế bào, kích thích trao đổi chất và hỗ trợ tổng hợp các hợp chất hoạt tính sinh học [20, 21]. Ngược lại, khi vượt quá ngưỡng chịu đựng, hiệu ứng cơ học, nhiệt và hóa học do siêu âm tạo ra có thể gây tổn thương tế bào, ức chế sự phát triển của vi sinh vật và làm giảm khả năng sống sót của vi khuẩn [21, 5]. Do đó, cường độ sóng siêu âm $0,9 \text{ W/cm}^2$ được xác định là điều kiện được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo trong nghiên cứu này.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm trong quá trình lên men đến mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men

Ảnh hưởng của xử lý siêu âm trong thời gian khác nhau đối với mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và quá trình sản xuất hoạt tính chống oxy hóa DPPH của *L. plantarum* T16 được thể hiện trong hình 2: Với việc kéo dài thời gian xử lý siêu âm, tốc độ tăng mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men lúc đầu tăng lên và sau đó giảm dần. Trong đó, khi thời gian xử lý là 120 giây, tỷ lệ tăng mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và sinh hoạt tính chống oxy hóa DPPH đều đạt giá trị cao nhất lần lượt là $5,4 \times 10^8$ CFU/ml và 72,41% ($p < 0,05$). Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian siêu âm lên 150 và 180 giây, hoạt tính DPPH và mật độ tế bào đều giảm rõ rệt. Hiện tượng này có thể do tác động xâm thực kéo dài của siêu âm, tạo ra các bong bóng khí vi mô chân không và sóng xung kích phá hủy màng tế bào dẫn đến tế bào bị tổn thương bởi tác động xâm thực kéo dài, làm giảm khả năng sống sót và hoạt tính sinh học của vi sinh vật. Theo Chemat và cs (2011) [4], Khadem và cs (2020) [17], thời gian siêu âm dài có thể làm tăng đáng kể năng lượng cơ học và hóa học, dẫn đến phá hủy cấu trúc tế bào vi sinh vật. Dựa trên các kết quả này, thời gian siêu âm 120 giây đã được chọn để sử dụng cho các thử nghiệm tiếp theo.



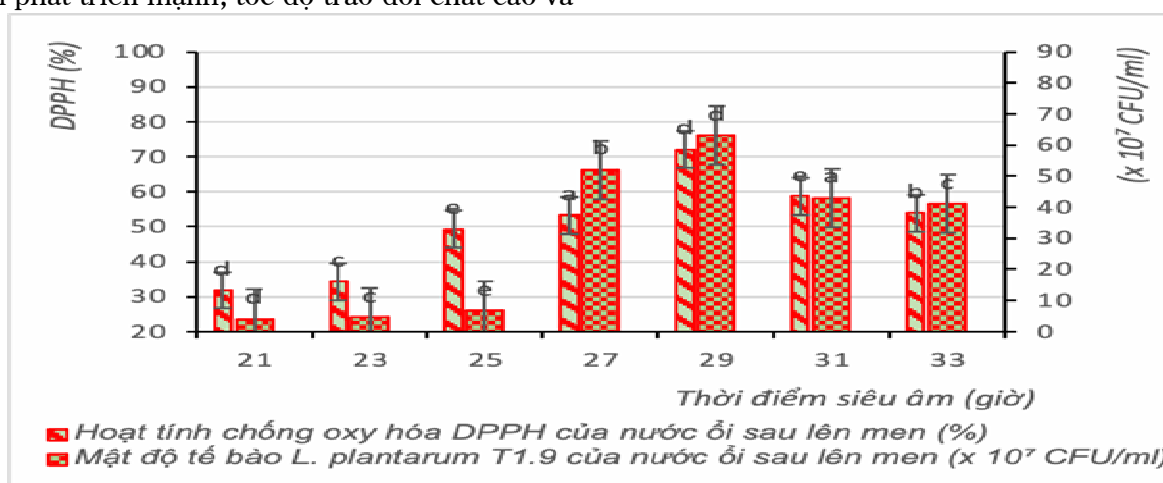
Hình 2. Ảnh hưởng thời gian siêu âm trong quá trình lên men đến mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

3.3. Ảnh hưởng của thời điểm siêu âm trong quá trình lên men đến mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men

Việc lựa chọn thời điểm can thiệp siêu âm tối ưu là điều cần thiết nhằm đạt được sự gia tăng về mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men. Nếu can thiệp sóng siêu âm ở thời điểm quá sớm, tế bào của vi khuẩn còn yếu, chưa kịp thích nghi với môi trường nuôi cấy sẽ làm tổn thương tế bào. Trong khi đó, ở thời điểm thích hợp, tác động sóng siêu âm vừa có thể ảnh hưởng tốt đến thành tế bào, vừa tăng cường sự trao đổi chất, tăng chuyển khối, tăng tốc các phản ứng hóa học và tăng hiệu suất sinh khối cũng như sản phẩm chuyển hóa [4, 5]. Hình 3 cho thấy, ảnh hưởng của việc xử lý siêu âm ở các giai đoạn tăng trưởng khác nhau đối với mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men. Sự can thiệp bằng xử lý sóng siêu âm ở giai đoạn tăng trưởng logarit 29 giờ sau khi cấy đã thúc đẩy quá trình lên men của vi khuẩn: So với đối chứng, mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men được xử lý sóng siêu âm ở 29 giờ nuôi cấy tăng lên giá trị cao nhất là $6,3 \times 10^8$ CFU/ml và 72,09% ($p < 0,05$). Trong giai đoạn này, tế bào vi khuẩn phát triển mạnh, tốc độ trao đổi chất cao và

khả năng thích nghi tốt với các tác động vật lý từ bên ngoài, như đã được mô tả bởi Khadem và cs (2020) [17], Racioppo và cs (2017) [18]. Trong giai đoạn sớm (từ 21 - 27 giờ sau khi cấy giống vi khuẩn), các tế bào vi khuẩn cần thích nghi với môi trường mới để tăng sinh tế bào. Xử lý siêu âm ở giai đoạn này có thể dễ dàng gây ra tác động xấu cho các tế bào vi khuẩn, dẫn đến tốc độ tăng trưởng tương đối thấp, mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men được xử lý siêu âm ở 21 giờ nuôi cấy là $4,1 \times 10^7$ CFU/ml và 31,68%, ở 23 giờ nuôi cấy là $4,6 \times 10^7$ CFU/ml và 34,33%, ở 25 giờ nuôi cấy là $6,8 \times 10^7$ CFU/ml và 49,27%, ở 27 giờ nuôi cấy là $5,2 \times 10^8$ CFU/ml và 53,18%. Tuy nhiên, trong giai đoạn logarit, vi khuẩn phát triển nhanh và trao đổi chất mạnh mẽ. Mặt khác, khi xử lý siêu âm ở thời điểm muộn hơn (31 và 33 giờ sau khi cấy giống vi khuẩn), mặc dù vi khuẩn *L. plantarum* T1.9 vẫn trong pha logarit, nhưng tốc độ tăng sinh và trao đổi chất có xu hướng giảm dần, dẫn đến hiệu ứng kích thích của siêu âm kém rõ rệt. Do đó, hiệu ứng kích thích sinh học từ sóng siêu âm không còn phát huy rõ rệt như ở giai đoạn đỉnh sinh trưởng. Tại các thời điểm này, mật độ tế bào chỉ đạt $4,3 \times 10^8$ CFU/mL (31 giờ) và $4,1 \times 10^8$ CFU/mL (33 giờ), trong khi hoạt tính chống oxy hóa DPPH lần lượt đạt 58,72% và 53,86%, đều thấp hơn đáng kể so với giá trị tối ưu quan sát được ở thời điểm 29 giờ.



Hình 3. Ảnh hưởng thời điểm siêu âm trong quá trình lên men đến mật độ tế bào của *L. plantarum* T1.9 và hoạt tính chống oxy hóa DPPH

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

Tăng sinh khối và hoạt tính chống oxy hóa ở thời điểm 29 giờ lên men có thể do hiệu ứng cộng hưởng của sóng siêu âm trong pha logarit, bao gồm: Gia tăng oxy hòa tan, tăng tính thấm của màng tế bào, tăng vận chuyển chất dinh dưỡng và kích hoạt enzyme nội bào [21]. Nghiên cứu cũng cho thấy sóng siêu âm có thể làm tăng biểu hiện các enzyme tham gia vào tổng hợp hợp chất chống oxy hóa nội sinh, từ đó cải thiện giá trị sinh học của sản phẩm sau lên men. Do đó, thời điểm 29 giờ sau khi cấy giống được xác định là thời điểm can thiệp sóng siêu âm tối ưu và được lựa chọn cho các thử nghiệm tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian lên men và xử lý sóng siêu âm đến mật độ tế bào và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư lên men

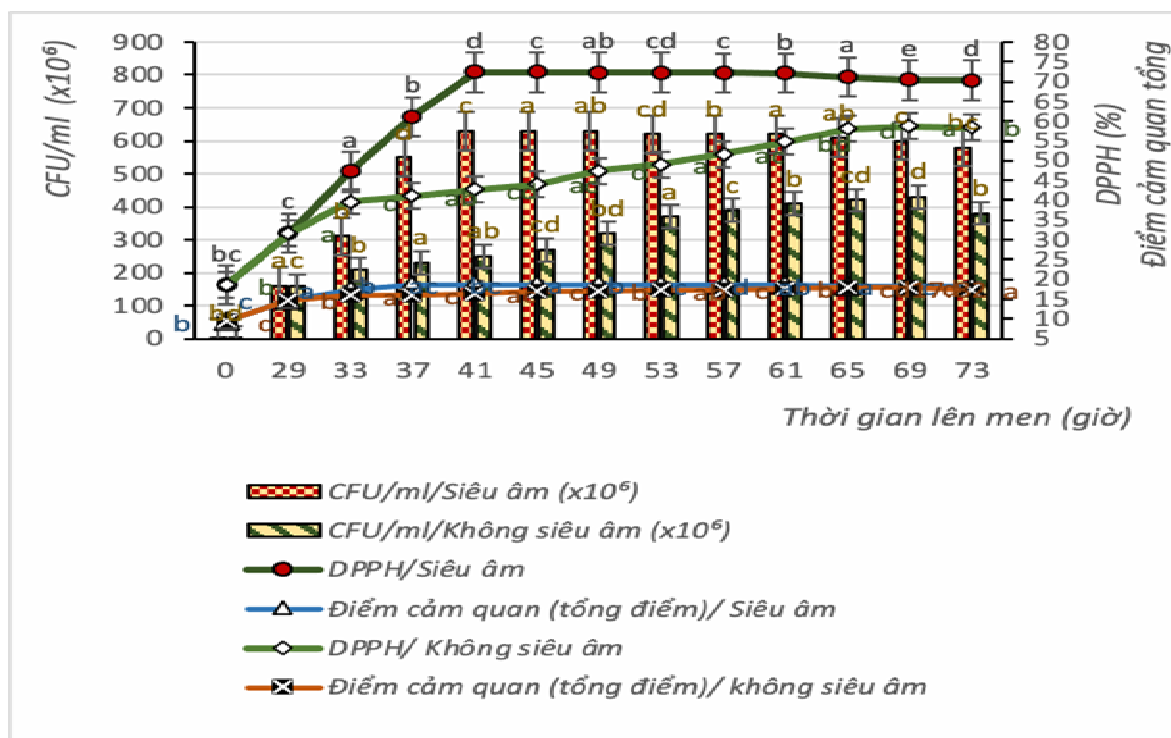
Hình 4 cho thấy, thời gian lên men và sự hiện diện của sóng siêu âm ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển của vi khuẩn *L. plantarum* T1.9, hoạt tính chống oxy hóa DPPH, cũng như chất lượng cảm quan của nước ép quả ổi Đông Dư sau lên men. Ở thời điểm ban đầu (0 giờ), mật độ tế bào vi khuẩn trong cả hai mẫu (có và không có xử lý siêu âm) đều ở mức thấp ($1,4 \times 10^6$ CFU/mL) và hoạt tính DPPH ở mức tương đương nhau (18,52%). Trong suốt quá trình lên men, mật độ tế bào và hoạt tính chống oxy hóa đều gia tăng, đặc biệt ở mẫu có xử lý siêu âm. Cụ thể, tại thời điểm 41 giờ, mật độ tế bào ở mẫu có siêu âm đạt $6,3 \times 10^8$ CFU/mL, cao gấp khoảng 2,5 lần so với mẫu không siêu âm ($2,5 \times 10^8$ CFU/mL). Sau thời điểm này, mật độ vi khuẩn có xu hướng ổn định và giảm nhẹ.

Hoạt tính DPPH trong mẫu siêu âm đạt giá trị cao nhất là 72,36% tại 41 giờ và duy trì mức cao đến 73 giờ (70,28%). Trong khi đó, mẫu không xử lý siêu âm chỉ đạt giá trị cực đại là 58,71% tại 69 giờ, thấp hơn đáng kể tại mọi thời điểm khảo sát. Điểm cảm quan tổng hợp cũng phản ánh rõ hiệu quả của xử lý sóng siêu âm. Mẫu xử lý sóng siêu âm đạt giá trị cảm quan cao nhất là 18,72/20 tại 41 giờ lên men, trong khi mẫu đối chứng chỉ đạt 17,82/20 tại 65 giờ.

Theo Chen và cs (2023) [22], việc áp dụng sóng siêu âm trong lên men nước trái cây không chỉ rút ngắn thời gian lên men mà còn làm tăng hàm lượng axit lactic và hoạt tính sinh học nhờ các cơ chế tác động đa chiều. Hiệu ứng tạo bong bóng khí vi mô chân không bằng sóng siêu âm: Sóng siêu âm tạo ra các vi bọt khí hình thành và sụp đổ liên tục, tạo ra lực cắt mạnh và vi dòng, giúp tăng cường khuếch tán oxy và chất dinh dưỡng, kích thích trao đổi chất qua màng tế bào vi khuẩn; tăng tính thấm của màng tế bào vi khuẩn: Giúp vi khuẩn dễ dàng hấp thu glucose, axit amin và khoáng chất, đồng thời hoạt hóa các enzyme nội bào như: Lactate dehydrogenase và các hợp chất sinh học; phá vỡ cấu trúc thành tế bào thực vật: Hỗ trợ giải phóng các hợp chất chống oxy hóa như: Vitamin C, polyphenol và flavonoid là những chất có khả năng bắt giữ gốc tự do mạnh, từ đó làm tăng đáng kể hoạt tính DPPH; rút ngắn pha thích nghi và kéo dài pha sinh trưởng lũy tiến.

Mẫu có xử lý sóng siêu âm bắt đầu tăng trưởng sớm hơn (từ 29 và 33 giờ), cho thấy vi khuẩn thích nghi nhanh và bước vào pha logarit, sớm hơn mẫu không xử lý; hạn chế tích lũy chất chuyển hóa bất lợi: Hiệu ứng tạo bong bóng khí vi mô chân không bằng sóng siêu âm giúp phân tán đều các chất như: Axit hữu cơ hay aldehyde là những chất có thể ức chế vi khuẩn nếu tích lũy cục bộ, từ đó duy trì môi trường lên men ổn định [4, 18, 23]. Những kết quả này phù hợp với Yu và cs (2021) [24] cho thấy, lên men với hỗ trợ siêu âm giúp tăng cường hoạt tính sinh học và chất lượng cảm quan sau khi lên men.

Vậy, thời gian lên men và sự hỗ trợ của công nghệ siêu âm là 2 yếu tố then chốt quyết định chất lượng của sản phẩm nước ép quả ổi Đông Dư lên men. Thời điểm 41 giờ lên men kết hợp xử lý siêu âm được xác định là tối ưu, cho phép đạt đồng thời mật độ vi khuẩn probiotic cao, hoạt tính chống oxy hóa mạnh và chất lượng cảm quan tốt nhất. Điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng công nghệ sóng siêu âm trong phát triển các sản phẩm đồ uống probiotic từ trái cây giàu hoạt chất sinh học như quả ổi.



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian lên men bằng *L. plantarum* T1.9 và xử lý sóng siêu âm đến mật độ tế bào và hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Du

Ghi chú: Những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ($p < 0,05$), các giá trị được thể hiện $\pm$ SD của 3 lần lặp lại.

3.5. So sánh giữa hai phương pháp lên men nước ép quả ổi Đông Du, có và không xử lý sóng siêu âm

Bảng 1 trình bày kết quả so sánh giữa 2 phương pháp lên men nước ép quả ổi bằng chủng *L. plantarum* T1.9: (i) có sử dụng xử lý siêu âm (20 kHz, 0,9 W/cm², trong 120 giây), (ii) không sử dụng siêu âm. Các thông số kỹ thuật khác được giữ nguyên nhằm đảm bảo tính so sánh bao gồm: Tỷ lệ giống (1%), pH ban đầu (5,5), nhiệt độ lên men (37°C). Sau 41 giờ lên men trong điều kiện có hỗ trợ siêu âm, mật độ tế bào *L. plantarum* T1.9 đạt $6,3 \times 10^8$ CFU/mL, cao hơn 2,52 lần so với mẫu không siêu âm ($2,5 \times 10^8$ CFU/mL và cao hơn đáng kể so với $4,3 \times 10^8$ CFU/mL ở mẫu không xử lý siêu âm sau 69 giờ lên men. Điều này có thể là siêu âm ở cường độ vừa phải không phá vỡ tế bào vi sinh vật mà có thể kích thích tính thấm màng tế bào và tăng khả năng trao đổi chất, mặc dù nếu cường độ hoặc thời gian siêu âm quá lớn có thể gây phá vỡ tế bào. Mẫu siêu âm có pH sau lên men thấp hơn (3,2) so với mẫu không siêu âm (3,8) và đối chứng (3,6), cho thấy khả năng chuyển hóa đường thành axit hữu cơ mạnh hơn. Đồng thời, độ

Brix giảm xuống 6,9°Bx ở mẫu siêu âm, thấp hơn rõ rệt so với mẫu không siêu âm (7,6°Bx), phản ánh việc sử dụng carbohydrate diễn ra nhanh hơn. Hoạt tính DPPH ở mẫu siêu âm đạt $72,36 \pm 1,40\%$, cao hơn nhiều so với mẫu không siêu âm ($42,71 \pm 1,64\%$) và đối chứng ($58,71 \pm 1,27\%$). Cơ chế được cho là có thể do sự giải phóng hợp chất phenolic và vitamin C từ mô quả nhờ tác động sóng siêu âm, đồng thời quá trình lên men tạo ra các peptide sinh học và axit hữu cơ có hoạt tính kháng oxy hóa. Điểm cảm quan ở mẫu siêu âm (18,72/20) cao hơn cả mẫu không siêu âm (16,41/20) và đối chứng (17,96/20). Điều này cho thấy sản phẩm có màu sắc tươi sáng hơn, hương thơm đặc trưng của ổi rõ nét, vị chua dịu và hậu vị dễ chịu hơn. Điều này chứng minh rằng công nghệ sử dụng sóng siêu âm không những rút ngắn thời gian lên men mà còn nâng cao hiệu quả sinh học, sản phẩm từ phương pháp có siêu âm cũng cho kết quả cảm quan tốt hơn, với hương vị đậm hơn, màu sắc tự nhiên hơn [24], khi nghiên cứu ảnh hưởng của lên men và xử lý cơ học đến đặc tính cảm quan của nước ép trái cây lên men. Sự gia tăng này phản ánh khả năng kích thích sinh tổng hợp hoặc giải phóng

các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa của quá trình lên men khi kết hợp sóng siêu âm. Điểm đáng chú ý là, mặc dù các điều kiện lên men được kiểm soát chặt chẽ, sự khác biệt về thời gian, mật độ vi khuẩn và hoạt tính sinh học giữa hai phương pháp cho thấy, tác động tích cực rõ ràng của công nghệ siêu âm. Ngoài ra, đánh giá cảm quan cho thấy, mẫu có xử lý siêu âm có màu sắc sáng,

hương thơm đặc trưng của ổi được bảo tồn tốt, vị chua ngọt hài hòa, là những yếu tố quan trọng góp phần nâng cao điểm cảm quan tổng thể. Kết quả này cung cấp cơ sở thực nghiệm vững chắc để ứng dụng siêu âm vào quá trình lên men nhằm rút ngắn thời gian chế biến, cải thiện chất lượng sinh học và cảm quan của sản phẩm.

Bảng 1. So sánh giữa hai phương pháp lên men nước ép quả ổi Đông Dư, có và không xử lý sóng siêu âm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Điều kiện lên men		
		Không sử dụng sóng siêu âm	Sử dụng sóng siêu âm 20 kHz, 0,9 w/cm², 120 giây	
Tỉ lệ giống (lên men với mật độ tế bào ban đầu khoảng 10 ⁶ CFU/mL)	%	1		
pH nước ép quả ổi Đông Dư trước khi lên men		5,5		
Chất khô nước ép quả ổi Đông Dư trước khi lên men	± 0,2°Bx	8,4		
Nhiệt độ	± 1°C	37		
Thời gian nuôi cấy	giờ	69	41	41
pH nước ép quả ổi Đông Dư sau khi lên men		3,6	3,8	3,2
Chất khô nước ép quả ổi Đông Dư sau khi lên men	± 0,2°Bx	7,4	7,6	6,9
Mật độ tế bào <i>L. plantarum</i> T1.9 của nước ép quả ổi Đông Dư sau khi lên men	CFU/ml	4,3 x 10 ⁸	2,5 x 10 ⁸	6,3 x 10 ⁸
Hoạt tính chống oxy hóa DPPH của nước ép quả ổi Đông Dư sau khi lên men	%	58,71 ± 1,27	42,71 ± 1,64	72,36 ± 1,40
Điểm đánh giá cảm quan	Tổng điểm quy đổi	17,96/20	16,41/20	18,72/20

3.6. Kết quả đánh giá cảm quan nước ép quả ổi Đông Dư lên men

Cảm quan là yếu tố quan trọng quyết định khả năng chấp nhận của người tiêu dùng đối với sản phẩm đồ uống lên men. Theo Stone và Sidel (2004) [15] cho thấy, các yếu tố như màu sắc, mùi hương và vị ảnh hưởng mạnh mẽ đến thị hiếu và hành vi tiêu dùng. Do đó, đánh giá cảm quan là một bước quan trọng trong quy trình nghiên cứu phát triển sản phẩm. Trong nghiên cứu này, sản phẩm nước ép quả ổi Đông Dư lên men trong điều kiện tối ưu (pH 5,5; 8,4°Bx; 37°C trong 41 giờ; hỗ trợ siêu âm tại 29 giờ sau cấy giống, với tần số 20

kHz, cường độ 0,9 W/cm² trong 120 giây) đã được đánh giá cảm quan bởi 12 người (cán bộ chuyên môn trong lĩnh vực thực phẩm), theo TCVN 7041:2009 [14]. Ba tiêu chí cảm quan chính được sử dụng gồm: Màu sắc, mùi hương và vị. Bảng 2 trình bày kết quả đánh giá cảm quan, trong đó tổng điểm quy đổi đạt 18,72/20 - phản ánh mức độ chấp nhận rất cao từ nhóm đánh giá, tiếp đến là mẫu 69 giờ không siêu âm (17,96/20), thấp nhất là mẫu 41 giờ không siêu âm (16,41/20). Cụ thể: Vị đạt điểm trung bình cao nhất (9,39 ± 1,40), vượt trội so với mẫu 69 giờ (8,98 ± 0,81) và mẫu 41 giờ không siêu âm (8,94 ± 1,74). Kết quả này phản ánh sự cân bằng giữa độ ngọt tự nhiên của ổi và vị chua

nhẹ từ quá trình lên men, mang lại cảm giác thanh mát và dễ chịu là đặc trưng của sản phẩm probiotic. Điều này khẳng định siêu âm không chỉ rút ngắn thời gian lên men mà còn nâng cao chất lượng cảm quan tổng thể, đặc biệt ở màu sắc và vị. Điều này có thể là do tốc độ lên men nhanh hơn ở mẫu siêu âm, hạn chế sự phát sinh các sản phẩm phụ gây vị lạ như: Axit acetic, aldehyde bay hơi khi lên men kéo dài, ngoài ra, sự giải phóng hợp chất phenolic và vitamin C từ mô quả; mùi hương cho điểm cảm quan của mẫu siêu âm đạt $7,43 \pm 0,52$, cao hơn mẫu lên men 69 giờ ($7,04 \pm 0,48$) nhưng thấp hơn mẫu 41 giờ không siêu âm ($5,68 \pm 0,58$). Cho thấy khả năng giữ được hương thơm đặc trưng của ổi tươi, không xuất hiện mùi lạ, mốc hoặc dấu hiệu lên men quá mức, việc bảo toàn mùi hương tự nhiên của ổi có thể liên quan đến khả năng hạn chế tổn thất các hợp chất dễ bay hơi như: Aldehyde, ester và terpenoid trong quá trình lên men. Hơn nữa, siêu âm còn có thể thúc đẩy giải phóng hương từ mô quả trong giai đoạn tiền lên men, tạo ra sự cân bằng giữa hương trái cây và hương axit lactic sau lên men. Có thể nhận định rằng việc rút ngắn thời gian lên men nhờ xử lý sóng siêu âm góp phần hạn chế oxy hóa, từ đó bảo tồn hương tự nhiên; Màu sắc đạt $7,90 \pm 0,16$, tương ứng với màu vàng nhạt đồng đều, đặc trưng của giống ổi Đông Dư sau lên men. Dù giảm nhẹ độ tươi so với nước ép nguyên chất, màu sắc vẫn được đánh giá cao về độ ổn định và chấp nhận cao. Khi so sánh với các mẫu không được hỗ trợ siêu âm, tổng điểm quy đổi thấp hơn rõ rệt: mẫu lên men 41 giờ không hỗ trợ siêu âm chỉ đạt 16,41/20, mẫu 69 giờ đạt 17,96/20, cho thấy rõ vai trò tích cực của siêu âm trong việc cải thiện chất lượng cảm quan và rút ngắn thời gian lên men.

Có thể trong quá trình lên men nước ép quả ổi Đông Dư bằng *L. plantarum* T1.9, đặc biệt khi có sự hỗ trợ của sóng siêu âm, các hợp chất phenolic tự nhiên như: Quercetin, catechin, axit gallic, flavonoid và axit hữu cơ trong ổi đã được giải phóng, biến đổi và chuyển hóa tích cực, góp phần nâng cao hoạt tính chống oxy hóa DPPH và cải thiện cảm quan của sản phẩm. Ngoài ra, theo Yu và cs (2021) [24] xử lý siêu âm có tác động tích cực đến việc cải thiện hiệu quả lên men của *L. plantarum*, thúc đẩy sự phát triển và chuyển hóa tế bào, đồng thời tăng cường quá trình lên men và trưởng thành, dẫn đến cải thiện một số đặc tính lý hóa và cảm quan của thực phẩm lên men (như: kết cấu, màu sắc, hương vị...), việc áp dụng sóng siêu âm trong lên men giúp ổn định màu sắc và cấu trúc polyphenol, từ đó duy trì sự hấp dẫn cảm quan của đồ uống chức năng. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng *L. plantarum* có khả năng thủy phân glycoside để giải phóng các aglycone có hoạt tính sinh học cao như quercetin aglycone một chất chống oxy hóa mạnh, đồng thời quá trình lên men cũng sản sinh axit hữu cơ (như lactic, acetic) và các este bay hơi làm gia tăng hương vị đặc trưng dễ chịu cho đồ uống probiotic [3, 25]. Mặt khác, công nghệ lên men với hỗ trợ siêu âm hỗ trợ đã góp phần trong việc phá vỡ cấu trúc tế bào thực vật, giúp tăng cường giải phóng polyphenol tự do, thúc đẩy quá trình trao đổi chất ở tế bào vi khuẩn và nâng cao hiệu suất lên men. Nhờ đó, không chỉ thời gian lên men được rút ngắn (từ 69 giờ còn 41 giờ), mà còn phá vỡ cấu trúc thành tế bào thực vật, từ đó tăng cường giải phóng các hợp chất polyphenol như: Flavonoid, catechin, axit gallic... những hợp chất không chỉ tăng hoạt tính chống oxy hóa DPPH mà còn cải thiện mùi, vị và màu sắc sản phẩm.

Bảng 2. Kết quả đánh giá cảm quan nước ép quả ổi Đông Dư lên men

TT	Các chỉ tiêu đánh giá cảm quan đánh giá sản phẩm	Trọng số	Điểm đánh giá	
			Từng chỉ tiêu (Điểm trung bình $\pm$ SD)	Tổng điểm quy đổi
1	Màu sắc	0,8	$7,90 \pm 0,16$	18,72/20
2	Mùi hương	1,2	$7,43 \pm 0,52$	
3	Vị	2	$9,39 \pm 1,40$	
II	Nước ép quả ổi Đông Dư được lên men trong 41 giờ không có hỗ trợ của sóng siêu âm			

1	Màu sắc	0,8	$4,02 \pm 0,21$	16,41/20
2	Mùi hương	1,2	$5,68 \pm 0,58$	
3	Vị	2	$8,94 \pm 1,74$	
III	<i>Nước ép quả ổi Đông Dư được lên men trong 69 giờ không có hỗ trợ của sóng siêu âm</i>			
1	Màu sắc	0,8	$3,96 \pm 0,19$	17,96/20
2	Mùi hương	1,2	$7,04 \pm 0,48$	
3	Vị	2	$8,98 \pm 0,81$	

Sản phẩm nước ép quả ổi Đông Dư lên men với hỗ trợ siêu âm đạt chất lượng cảm quan cao, đặc biệt ở các chỉ tiêu vị và hương, 2 yếu tố cốt lõi cho khả năng cạnh tranh trên thị trường. Kết quả này cho thấy, tiềm năng của công nghệ sóng siêu âm trong phát triển các dòng đồ uống probiotic từ nguyên liệu bản địa, góp phần nâng cao giá trị gia tăng và tính thương mại cho nông sản Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bước đầu khẳng định tiềm năng ứng dụng công nghệ sóng siêu âm trong lên men nước ép quả ổi Đông Dư bằng chủng *L. plantarum* T1.9. Xử lý siêu âm ở tần số 20 kHz, cường độ $0,9 \text{ W/cm}^2$ trong 120 giây tại 29 giờ sau cấy giống đã cho thấy hiệu quả rõ rệt: Tăng đáng kể mật độ tế bào probiotic so với đối chứng; nâng cao hoạt tính chống oxy hóa DPPH; rút ngắn thời gian lên men từ 69 giờ xuống còn 41 giờ, cải thiện rõ rệt chất lượng cảm quan sản phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, siêu âm không chỉ thúc đẩy quá trình sinh trưởng và chuyển hóa của vi khuẩn mà còn nâng cao giá trị chức năng và cảm quan của sản phẩm. Qua đó, mở ra triển vọng ứng dụng công nghệ siêu âm trong sản xuất đồ uống probiotic từ nguyên liệu giàu hoạt chất sinh học như ổi, góp phần nâng cao giá trị và khả năng thương mại hóa nông sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO/WHO. (2001). *Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina, 1 – 4, October 2001. <https://www.iqb.es/digestivo/pdfs/probioticos.pdf>.
2. Cebeci, A. and Gürakan, C. (2003). Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20(5),

pp.511 – 518. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00174-0](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00174-0)

3. Patel, A., Lindstrom, C., Patel, A. Prajapati, J., and Holst, O. (2012). Probiotic properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from vegetables and traditional Indian fermented foods. *International Journal of Fermented Foods*, 1(1), 87 – 101. <https://lucris.lub.lu.se/ws/files/3146851/4124609.pdf>

4. Chemat, F., Zill-e-Huma and Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813 – 835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>

5. Racioppo A, Speranza B, Altieri C, Sinigaglia M, Corbo MR and Bevilacqua A (2023). Ultrasound can increase biofilm formation by *Lactiplantibacillus plantarum* and *Bifidobacterium* spp. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1094671. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1094671>

6. Pitt, W. G. and Ross, S. A. (2003). Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnology progress*, 19(3), 1038 – 1044. <https://doi.org/10.1021/bp0340685>

7. Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Đào Thị Mỹ Linh, Đỗ Thị Hoàng Tuyền, Nguyễn Thị Thúy Hằng, Nguyễn Phạm Kim Tuyền (2020). Lên men lactic tạo đồ uống giàu probiotic từ thanh long ruột trắng (*Hylocereus undatus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*, 129(1A), 71 – 77. <https://doi.org/10.26459/hueuni-jns.v129i1A.5436>

8. Codex Alimentarius Commission (2004). *Guidelines on sampling (CAC/GL 50-2004)*. Rome: FAO/WHO.

9. ISO (1998). ISO 15214:1998 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30 degrees C. International Organization for Standardization, Geneva.
10. AOAC (2019). *Official Methods of Analysis*. 21st Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., USA.
11. Ranganna, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. 2nd Edition. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, India.
12. Brand Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28(1), 25 - 30.
13. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6 - 7), 669 - 675.
14. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7041:2009. Đồ uống không cồn - Quy định kỹ thuật.
15. Stone, H., Sidel, J. L. (2004). *Sensory Evaluation Practices*. 3rd Edition. Elsevier Academic Press, California, USA.
16. Krasovitski, B., Frenkel, V., Shoham, S., and Kimmel, E. (2011). Intramembrane cavitation as a unifying mechanism for ultrasound induced bioeffects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 108, 3258 - 3263. <https://doi.org/10.1073/pnas.1015771108>
17. Khadem, H., Tirtouil, A. M., Drabo, M. S., and Boubakeur, B. (2020). Ultrasound conditioning of *Streptococcus thermophilus* CNRZ 447: Growth, biofilm formation, exopolysaccharide production, and cell membrane permeability. *Bio Technol.* 101, 159 - 165. <https://doi.org/10.5114/bta.2020.94774>
18. Racioppo, A., Corbo, M. R., Piccoli, C., Sinigaglia, M., Speranza, B., and Bevilacqua, A. (2017). Ultrasound attenuation of lactobacilli and bifidobacteria: Effect on some technological and probiotic properties. *Int. J. Food Microbiol.* 243, 78 - 83. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2016.12.011>
19. Dai, C., Xiong, F., He, R., Zhang, W., and Ma, H. (2017). Effects of low-intensity ultrasound on the growth, cell membrane permeability and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Ultrason. Sonochem.* 36, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.035>
20. Avhad, D. N., and Rathod, V. K. (2015). Ultrasound assisted production of a fibrinolytic enzyme in a bioreactor. *Ultrason. Sonochem.* 22, 257 - 264. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.04.020>
21. Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P., and Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrason. Sonochem.* 34, 410 - 417. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.001>
22. Chen, J. L., Wang, Q. Q., Wu, Y. T., Wu, Y., Sun, Y., Ding, Y. F., Wei, Z., Manickam, S., Pan, S. K., Yang, J., & Tao, Y. (2023). Ultrasound-assisted fermentation of ginkgo kernel juice by *Lactiplantibacillus plantarum*. Microbial response and juice composition development. *Ultrasonics Sonochemistry*, 99, 106587. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106587>
23. Moosavi, M. H., Khaneghah, A. M., Javanmardi, F., Hadidi, M., Hadian, Z., Jafarzadeh, S., et al. (2021). A review of recent advances in the decontamination of mycotoxin and inactivation of fungi by ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 79:105755. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105755>
24. Yu, Z., Su, Y., Zhang, Y., Zhu, P., Zi, M., & Zhou, X. (2021). Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods. *Food Chemistry*, 357, 129805. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129805>
25. Li, N., Huang, Y., Liu, Z., You, C., and Buo, B. (2015). Regulation of EPS production in *Lactobacillus casei* LC2W through metabolic engineering. *Lett. Appl. Microbiol.* 61, 555 - 561. <https://doi.org/10.1111/lam.12492>

**EFFECT OF ULTRASOUND ON THE FERMENTATION PROCESS OF
PROBIOTIC BEVERAGE FROM DONG DU GUAVA FRUIT****Nguyen Duc Tien¹, Nguyen Thi Huyen¹**¹ *Vietnam Institute of Agricultural Engineering and Postharvest Technology***Abstract**

Lactobacillus plantarum is a widely applied probiotic strain in fermented food production due to its ability to support digestion and enhance immune function. Dong Du guava (*Psidium guajava*), a local specialty cultivar grown in Gia Lam commune, Ha Noi city, is rich in bioactive compounds such as polyphenols, vitamin C, and organic acids, making it a promising raw material for the development of probiotic beverages with high nutritional and sensory value. This study aimed to investigate the effect of ultrasound treatment on the fermentation of Dong Du guava juice by *Lactobacillus plantarum* T1.9 (*L. plantarum* T1.9), focusing on key indicators including probiotic cell density, antioxidant activity (DPPH), and sensory quality of the final product. The investigated factors included ultrasound intensity (0 to 1.5 W/cm²) at a frequency of 20 kHz, ultrasound treatment duration (0 to 180 seconds), application time (21 to 33 hours after inoculation), and total fermentation time (0 to 73 hours). Results indicated that the optimal ultrasound condition was 0.9 W/cm² for 120 seconds applied at 29 hours post-inoculation. This treatment shortened the fermentation time to 41 hours while achieving a probiotic cell density of 6.3×10^8 CFU/mL and a DPPH antioxidant activity of 72.36%, which was 1.23 times higher than the control. Sensory evaluation revealed that the product retained the characteristic flavor of guava, exhibited a balanced sweet-sour taste, and achieved a high overall sensory score of 18.72 out of 20, reflecting high consumer acceptance. The findings confirm the potential of ultrasound technology in enhancing fermentation efficiency and improving both biofunctional and sensory properties of probiotic beverages derived from local fruit materials.

Keywords: *Probiotic beverage, Lactobacillus plantarum, fermentation, Dong Du guava, ultrasound.*

Ngày nhận bài: 25/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 11/7/2025

Ngày thông qua phản biện: 28/7/2025

Ngày duyệt đăng: 5/8/2025

THỂ LỆ VIẾT VÀ GỬI BÀI

1. Tạp chí Nông nghiệp và Môi trường đăng tải các bài báo khoa học công bố các công trình nghiên cứu khoa học có nội dung khoa học mới, các bài tổng quan về ngành nông nghiệp và môi trường chưa gửi đăng ở bất kỳ loại hình báo chí nào.

2. Bài báo có thể viết bằng tiếng Việt (đăng trên Tạp chí bằng ngôn ngữ tiếng Việt) hoặc tiếng Anh (đăng trên Tạp chí bằng ngôn ngữ tiếng Anh), soạn thảo trên máy vi tính, các dòng cách nhau bằng 1,2 (Paragraph/Line spacing Multiple at 1,2), sử dụng font chữ Times New Roman, cỡ chữ 12, có độ dài không quá 10 trang giấy khổ A4 bao gồm cả tài liệu tham khảo.

3. Từ khóa được trình bày theo thứ tự alphabet, từ 3 - 5 từ. Từ khóa bằng tiếng Việt và tiếng Anh phải cùng nội dung, ý nghĩa của từ. Phần tóm tắt có độ dài không quá 350 từ viết liền, không xuống dòng, cỡ chữ 10, bao gồm: Nêu ngắn gọn về mục đích, phương pháp nghiên cứu, kết quả nghiên cứu chính. Bài báo viết bằng tiếng Việt phải có tóm tắt bằng cả tiếng Anh, tiếng Việt và không khác biệt về nội dung, ý nghĩa.

4. Bài báo phải được trình bày theo thứ tự sau: Tên bài báo bằng tiếng Việt và tiếng Anh, (các) tác giả, tên cơ quan của (các) tác giả, tóm tắt, từ khóa, nội dung của bài báo, lời cảm ơn (nếu có), tài liệu tham khảo. Tác giả liên hệ phải được chỉ rõ cùng với địa chỉ cơ quan, Email, số điện thoại trên trang nhất của bản thảo. Tên riêng tiếng Việt phải có đủ dấu thanh kể cả các bài viết bằng tiếng Anh.

5. Tài liệu tham khảo được trình bày theo thứ tự trích dẫn và đánh số đặt trong ngoặc vuông theo thứ tự xuất hiện trong bài báo và trong danh mục tài liệu tham khảo.

+ *Đối với các tài liệu là bài báo trong Tạp chí ghi đầy đủ theo thứ tự:* Tên tác giả, năm xuất bản, tên bài báo, tên tạp chí, tập, số, trang.

+ *Đối với các tài liệu là sách ghi đầy đủ theo thứ tự:* Tên tác giả, năm xuất bản, tên sách, nhà xuất bản, nơi xuất bản.

Nếu bài viết bằng tiếng Anh, tài liệu tham khảo nào không phải bằng tiếng Anh thì phải dịch ra tiếng Anh và chú thích ngôn ngữ gốc trong ngoặc đơn.

6. Tạp chí Nông nghiệp và Môi trường thực hiện quy trình gửi bài, quy trình phản biện online trên hệ thống phần mềm của Tạp chí và sử dụng cơ sở dữ liệu các số Tạp chí đã xuất bản, đề nghị các cộng tác viên, phản biện bài báo và bạn đọc truy cập vào website: <http://tapchikhoahoc.nnmt.net.vn> và thực hiện các thủ tục theo hướng dẫn.

7. Chi tiết xin liên hệ: Tạp chí Nông nghiệp và Môi trường; Số 10 Nguyễn Công Hoan, Ba Đình, Hà Nội; Điện thoại: 024.37711070; 024.38345457; 024.37716634. Email: bbtnongnghiep@gmail.com.

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

448

449

450

451

452

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

498

499

500

501

502

503

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556

557

558

559

560

561

562

563

564

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576

577

578

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

611

612

613

614

615

616

617

618

619

620

621

622

623

624

625

626

627

628

629

630

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

644

645

646

647

648

649

650

651

652

653

654

655

656

657

658

659

660

661

662

663

664

665

666

667

668

669

670

671

672

673

674

675

676

677

678

679

680

681

682

683

684

685

686

687

688

689

690

691

692

693

694

695

696

697

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711

712

713

714

715

716

717

718

719

720

721

722

723

724

725

726

727

728

729

730

731

732

733

734

735

736

737

738

739

740

741

742

743

744

745

746

747

748

749

750

751

752

753

754

755

756

757

758

759

760

761

762

763

764

765

766

767

768

769

770

771

772

773

774

775

776

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

789

790

791

792

793

794

795

796

797

798

799

800

801

802

803

804

805

806

807

808

809

810

811

812

813

814

815

816

817

818

819

820

821

822

823

824

825

826

827

828

829

830

831

832

833

834

835

836

837

838

839

840

841

842

843

844

845

846

847

848

849

850

851

852

853

854

855

856

857

858

859

860

861

862

863

864

865

866

867

868

869

870

871

872

873

874

875

876

877

878

879

880

881

882

883

884

885

886

887

888

889

890

891

892

893

894

895

896

897

898

899

900

901

902

903

904

905

906

907

908

909

910

911

912

913

914

915

916

917

918

919

920

921

922

923

924

925

926

927

928

929

930

931

932

933

934

935

936

937

938

939

940

941

942

943

944

945

946

947

948

949

950

951

952

953

954

955

956

957

958

959

960

961

962

963

964

965

966

967

968

969

970

971

972

973

974

975

976

977

978

979

980

981

982

983

984

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

995

996

997

998

999

1000