

BỘ GIÁO DỤC ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG

ĐẶNG BỬU TÙNG THIÊN

NGHIÊN CỨU THU NHẬN POLYPHENOL,
CHLOROPHYLL TỪ RAU MÁ THÌA (*Centella asiatica* (L.)
Urb) VÀ ỨNG DỤNG TRONG ĐỒ UỐNG

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA – 2023

Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Nha Trang

Hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Ngô Đăng Nghĩa

2. PGS. TS. Vũ Ngọc Bội

Phản biện 1: GS. TS. Nguyễn Anh Dũng

Phản biện 2: GS. TS. Nguyễn Thị Hiền

Phản biện 3: PGS. TS. Nguyễn Thị Hoàng Trâm

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp trường, họp tại Trường Đại học Nha Trang vào giờ ngày tháng năm 2023

Có thể tìm hiểu luận án tại: Thư viện Quốc gia và Thư viện Trường Đại học Nha Trang

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Các thảo dược, hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học hiện nay đang được quan tâm sử dụng trong y học, thực phẩm, mỹ phẩm, nông nghiệp... Rau má (*Centella asiatica* (L.) Urb) thuộc họ Hoa tán là loài rau, loài thảo dược được biết đến có tác dụng tăng cường trí nhớ, hỗ trợ điều trị bệnh ngoại da, giải độc gan, có hoạt tính chống oxy hóa cao... Có nhiều đặc tính như vậy là nhờ rau má có chứa các hợp chất hóa học tác dụng tốt đối với cơ thể, trong đó các polyphenol, chlorophyll và dẫn xuất của chúng cũng đáng quan tâm.

Đã có nhiều nghiên cứu cho thấy, việc con người sử dụng các thực phẩm, thảo dược giàu polyphenol, chlorophyll tốt cho sức khỏe, có tác dụng giảm nguy cơ mắc bệnh tật, phòng ngừa bệnh ung thư, kéo dài tuổi thọ... Các đặc tính sinh học và lợi ích của polyphenol, chlorophyll đối với sức khỏe con người đã được thế giới quan tâm nghiên cứu và sản xuất các sản phẩm có hoạt chất chống oxy hóa nhằm mang lại sức khỏe cho con người. Trong đó hướng nghiên cứu trong lĩnh vực công nghệ thực phẩm về sản xuất các thực phẩm giàu polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa nhằm đem lại lợi ích cho sức khỏe con người được khuyến khích và có nhiều tiềm năng.

Từ lý do đó tôi thực hiện đề tài luận án: “Nghiên cứu thu nhận polyphenol, chlorophyll từ rau má thìa (*Centella asiatica* (L.) Urb) và ứng dụng trong đồ uống”.

2. Mục tiêu của luận án

Xây dựng được quy trình thu nhận polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa (*Centella asiatica* (L.) Urb) trồng tại Nha Trang - Khánh Hòa và tạo được bột rau má sấy phun chứa các hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa nhằm định hướng ứng dụng trong đồ uống thay thế cho các sản phẩm nước uống rau má truyền thống.

3. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu chiết tách polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa là rau má thìa (*Centella Asiatica* (L.)), thu thập ngẫu nhiên từ ruộng rau má ở giai đoạn 75 ngày tuổi.

Dịch chiết rau má thìa ở điều kiện tối ưu là nguyên liệu dùng để nghiên cứu sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa.

4. Phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu xác định điều kiện tối ưu cho quá trình tách chiết polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má trồng tại Nha Trang - Khánh Hòa;

Nghiên cứu xác định điều kiện tối ưu cho quá trình sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa;

Nghiên cứu bảo quản bột rau má chứa polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa.

5. Phương pháp nghiên cứu

Để nghiên cứu thu nhận polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thà (*Centella asiatica* (L.) Urb), luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu tiêu chuẩn của thế giới và Việt Nam, có sử dụng các phần mềm xử lý số liệu, phần mềm tối ưu hóa uy tín nhằm đảm bảo kết quả thí nghiệm có độ tin cậy cao.

6. Kết cấu của luận án

Luận án gồm 165 trang, trong đó 25 trang tổng quan, 28 trang phương pháp nghiên cứu, 91 trang kết quả nghiên cứu, 2 trang kết luận và kiến nghị, 20 bảng số liệu, 88 hình, 184 tài liệu tham khảo (tiếng Việt 20 tài liệu, tiếng Anh 164 tài liệu) và 10 trang phụ lục.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Giới thiệu về rau má thà, polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa

Rau má thà với tên khoa học là *Centella Asiatica* (L.) Urb. (Hoặc *Hydrocotyle asiatica* (L.) Urb.). Loài này có nhiều hợp chất hóa học có hoạt tính tốt, trong đó có nhiều các polyphenol tồn tại ở hai nhóm flavonoid và acid phenolic; có các chlorophyll A và chlorophyll B. Cùng với các hoạt chất trên, rau má thà có nhiều hoạt tính như: bảo vệ tế bào da, niêm mạc dạ dày, tế bào thần kinh; làm giảm phát triển khối u, giảm nguy cơ và điều trị bệnh tiểu đường, giảm ung thư gan, ung thư vú, có hoạt tính kháng vi sinh vật, hoạt tính chống oxy hóa...

Việc nghiên cứu nhằm thu hồi các polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thà để sử dụng nó trong các lĩnh vực nói chung và lĩnh vực thực phẩm nói riêng là phù hợp với nhu cầu cuộc sống hiện nay.

1.2. Chiết tách polyphenol, chlorophyll

Để chiết polyphenol, chlorophyll có thể sử dụng nguyên lý chiết Rắn - Lỏng. Trong quá trình chiết cũng phải xem xét độ phân cực, bản chất hóa học của các đối tượng cần chiết để chọn dung môi chiết phù hợp, cụ thể người ta thường sử dụng các dung môi có độ phân cực cao để chiết như: methanol, ethanol, acetone...

Và quá trình chiết cũng xét đến các yếu tố tác động như: nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ DM/NL, pH... Bên cạnh đó, quá trình chiết cũng có thể sử dụng các yếu tố vật lý để hỗ trợ như: sóng siêu âm, vi sóng, điện trường, áp suất thủy tĩnh...

1.3. Sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol, chlorophyll

Sấy phun là quá trình khử nước trong các giọt chất lỏng đã được làm phân tán với kích thước rất nhỏ trong dòng không khí nóng và thu được bột ở dạng hạt mịn, khô. Để thực hiện kỹ thuật này, người ta dịch hóa nguyên liệu, phun dịch nguyên liệu thành các hạt nhỏ trong môi trường nhiệt độ cao để tách và sấy khô chất khô, chuyển chúng về dạng bột nhanh chóng nhờ máy sấy phun. Kỹ thuật sấy phun tạo nên diện tích bề mặt lớn dưới dạng các giọt chất lỏng rất nhỏ, mịn thông qua quá trình phân tử hóa dịch sấy trong buồng sấy, cho sản phẩm dạng hạt bột và hình cầu.

Để có được bột rau má có chất lượng, có đặc tính lý hóa tốt thì thiết bị sấy phun phải đảm bảo các đặc tính kỹ thuật, phải chọn kỹ thuật và điều kiện sấy phun phù hợp. Chất lượng sản phẩm bột của kỹ thuật sấy phun phụ thuộc vào chất mang, các điều kiện sấy gồm: nồng độ dịch sấy, nhiệt độ không khí đầu vào và đầu ra, lưu lượng dòng cấp liệu, lưu lượng khí nén, lưu lượng khí khô, loại cơ cấu phun và tốc độ phun...

1.4. Một số nghiên cứu ứng dụng polyphenol, chlorophyll

Các hợp chất polyphenol được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực công nghệ thực phẩm do chúng là những chất hoạt động giữ vai trò chủ đạo quyết định đến hương vị, màu sắc của sản phẩm thực phẩm; tham gia vào các quá trình tạo ra các cấu tử thơm mới, tạo nên mùi thơm đặc biệt cho thực phẩm; cũng được quan tâm nhiều trong lĩnh vực đồ uống có nguồn gốc từ thực vật vì chúng có hoạt tính chống oxy hóa, đặc biệt các phenolics được coi là chất chống oxy hóa mạnh mẽ. Ngoài ra, polyphenol còn được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực y học cổ truyền, y học hiện đại để hỗ trợ điều trị bệnh.

Chlorophyll là phụ gia thực phẩm được sử dụng tạo màu xanh lá tự nhiên cho các loại thực phẩm như bánh, kẹo, gia vị, nước giải khát,... dùng sản xuất các thực phẩm có chức năng có chlorophyll như nước uống, viên uống diệt lục tố... Chlorophyll cũng là các chế phẩm mỹ phẩm có tác dụng chống oxy hóa, thuốc khử mùi cơ thể, làm giảm hôi miệng, hôi nách, hôi chân; kem dưỡng da, mặt nạ làm đẹp da, xà phòng, kem đánh răng...

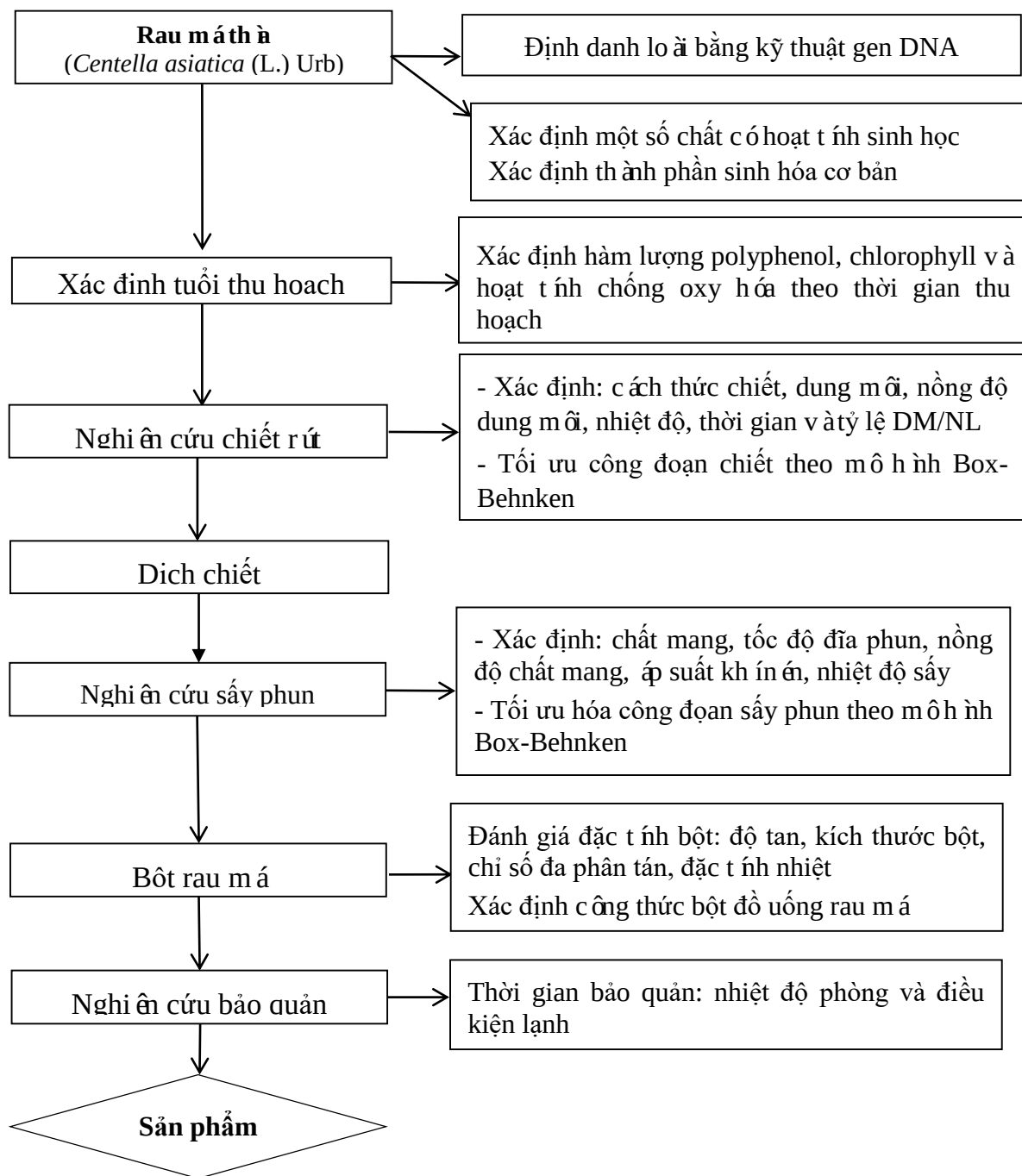
CHƯƠNG 2: NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. NGUYÊN VẬT LIỆU

Rau má thà (*Centella asiatica* (L), Urban), thuộc giới *Plantae*, bộ *Apiales*, họ *Apiaceae*, phân họ *Mackinlayoideae* và chi *Centella* mọc tại Nha Trang - Khánh Hòa.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Sơ đồ thí nghiệm tổng quát



Hình 2.1. Sơ đồ thí nghiệm tổng quát

Mẫu rau má thì đã được xử lý, sấy khô, nghiền nhỏ thành bột và lưu trữ. Sau đó mẫu được phân tích, đánh giá các thành phần dinh dưỡng cơ bản, hàm lượng polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa.

Quá trình tách chiết sẽ khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến thu nhận hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thì đã; gồm các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết: phương thức chiết, dung môi chiết, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, tỷ lệ DM/NL, nồng độ dung môi, pH dung dịch chiết. Dịch chiết sau đó được nghiên cứu sấy phun tạo bột, xác định các đặc tính và chất lượng thu bột rau má thì đã.

2.2.2. Phương pháp định danh, xử lý mẫu và phân tích hóa học

- Định danh rau má thì đã được thực hiện tách chiết DNA tổng số dựa trên quy trình CTAB cơ bản của Kurt Weising có cải tiến, giải trình tự gen theo phương pháp Sanger và kết quả giải trình tự được hiệu chỉnh bằng phần mềm BioEdit version 7.2.6.1.

- Xử lý mẫu được thực hiện theo Gunathilake và Cs, (2002).

- Xác định độ ẩm của rau má thì đã theo Dược điển Việt Nam V, tập 2 (phụ lục 9.6; PL203).

- Xác định hàm lượng tro toàn phần của rau má thì đã theo Dược điển Việt Nam V, tập 2 (phụ lục 9.8; PL204).

- Định lượng hoạt tính chống oxy hóa tổng theo Prieto và cộng sự (1999) với chất chuẩn là acid ascorbic và đo độ hấp thụ quang bằng máy quang phổ UV-VIS ở bước sóng 695nm.

- Định lượng hoạt tính khử sắt theo Zhu và cộng sự với chất chuẩn là sắt (II) sunphat FeSO_4 (2002) và đo độ hấp thụ quang bằng máy quang phổ UV-VIS ở bước sóng 655 nm.

- Xác định hoạt tính bắt gốc tự do DPPH theo Brand-Williams và cộng sự (1995) và đo độ hấp thụ quang trên máy quang phổ UV-VIS ở bước sóng 517nm.

- Định lượng polyphenol theo phương pháp Folin - Ciocalteu (Singleton và Cs, 1999) với acid gallic là chất chuẩn và đo độ hấp thụ quang trên máy quang phổ UV-VIS ở bước sóng 755 nm.

- Định lượng chlorophyll theo Lichtenthaler H. K. (1987) dung môi ethanol 95%, đo độ hấp thụ của dịch chiết bằng máy quang phổ UV-VIS ở bước sóng 664 nm và 648 nm.

- Xác định độ tan của bột sấy phun thực hiện theo Dược điển Việt Nam V, (2017).
- Xác định đường kính hạt trung bình và chỉ số phân tán được đo bằng kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (DLS: Dynamic Light Scattering) theo tiêu chuẩn ISO 22412 (2008) (Technical Committee ISO/TC 24, 2017).
- Phân tích nhiệt vi sai DSC (Differential scanning calorimetry) được thực hiện bằng thiết bị phân tích nhiệt quét vi sai bù năng lượng DSC-60, Shimadzu, Nhật.
- Xác định hàm lượng và thành phần kim loại: Xác định thủy ngân (Hg) theo QCVN 8-2: 2011/BYT, xác định Cadmi (Cd) theo QCVN 8-2: 2011/BYT, xác định chì (Pb) theo QCVN 8-2: 2011/BYT và xác định Arsen (As) theo QCVN 8-2: 2011/BYT.

2.2.3. Phương pháp phân tích vi sinh vật

- Xác định *Salmonella* theo QCVN 8-3: 2012/BYT
- Xác định *Escherichia coli* theo QCVN 8-3: 2012/BYT

2.3. PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU

Số liệu thực nghiệm được thu nhận bằng phương pháp thống kê. Mỗi thí nghiệm được tiến hành 3 lần, mỗi lần 3 mẫu và kết quả là trung bình cộng của các lần thí nghiệm. Tính toán, vẽ đồ thị, xử lý kết quả, phân tích phương sai ANOVA, kiểm tra sự khác biệt bằng phần mềm Minitab 18.0 và phân tích dữ liệu, thiết kế tối ưu hóa bằng phần mềm Design Expert 12.0.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. ĐỊNH DANH VÀ PHÂN TÍCH MỘT SỐ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CHỦ YẾU CỦA RAU MÁ THÌA

3.1.1. Định danh rau má thìa

Mẫu rau má được thực hiện tách chiết DNA theo quy trình CTAB I, quy trình có cải tiến trong việc bổ sung SDS vào thành phần đệm phân lập. Tiến hành tách và nhúng bản 02 gene matK và ITS1–5.8S–ITS2. Tất cả các sản phẩm của quá trình nhúng bản bằng phản ứng PCR với mỗi đặc hiệu có được từ các DNA tách chiết từ mẫu được giải trình tự thu được Kết quả đọc trình tự gene của đoạn matK và đoạn 5.8S rDNA. Kết quả cho thấy các trình tự thu được của mẫu nghiên cứu có mức độ tương đồng cao với các trình tự của vùng *matK* (98,44%- 98,76%) và vùng ITS (98,21-100%) của loài *Centella asiatica* có sẵn trên NCBI. Vậy mẫu nghiên cứu thuộc loài rau má thìa (*Centella asiatica* (L.) Urban), làm cơ sở cho nghiên cứu.

3.1.2. Phân tích một số thành phần hóa học chủ yếu của rau má thìa

Phân tích cho thấy hàm lượng polyphenol, chlorophyll và triterpenoid có trong rau má thìa mọc tại Khánh Hòa cao hơn so với cùng loài tại một số quốc gia có công bố như Malaysia, Ấn độ và cũng cao hơn một số loài rau má khác mọc tại Khánh Hòa như *Hydrocotyle verticillata* Thunb., *Hydrocotyle javanica* Thunb. Ngoài ra, rau má thìa mọc tại Khánh Hòa cũng chứa rất nhiều các thành phần dinh dưỡng như: protein, chất béo, carbohydrate, các vitamin và các khoáng chất (bảng 3.1).

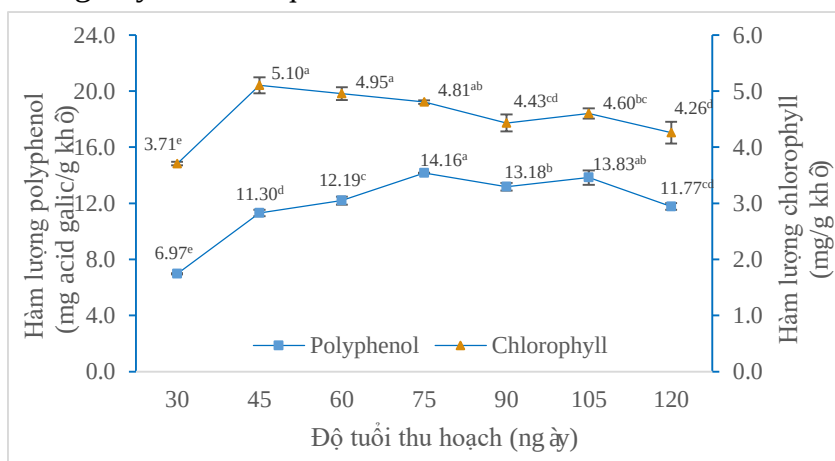
Bảng 3.1. Các thành phần quang hóa và dinh dưỡng của rau má thìa

Thành phần hóa học	Đơn vị	Hàm lượng
Polyphenol	mg acid galic/g khô	13,56 ± 0,20
Chlorophyll	mg/g khô	4,73 ± 0,03
Triterpenoid	mg acid oleanolic/g khô	5,90 ± 0,02
Protein	g/100g khô	11,32 ± 0,12
Chất béo	g/100g khô	3,15 ± 0,01
Carbohydrate	g/100g khô	28,42 ± 0,02
Chất xơ	g/100g khô	42,80 ± 0,12
Khoáng	g/100g khô	3,62 ± 0,09

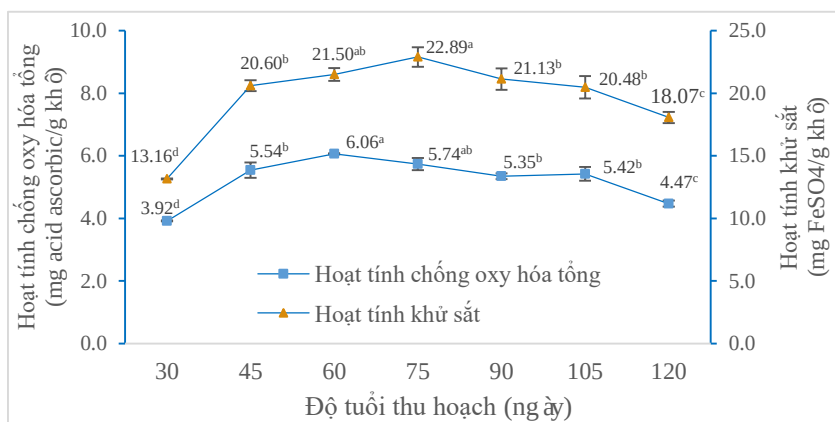
3.1.3. Xác định thời gian thu hoạch rau má

Thời gian thu hoạch rau má thìa có ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol và chlorophyll của nó. Hơn nữa, nghiên cứu cũng cho thấy có tương quan khá mạnh giữa hàm lượng polyphenol, chlorophyll với các loại hoạt tính chống oxy hóa.

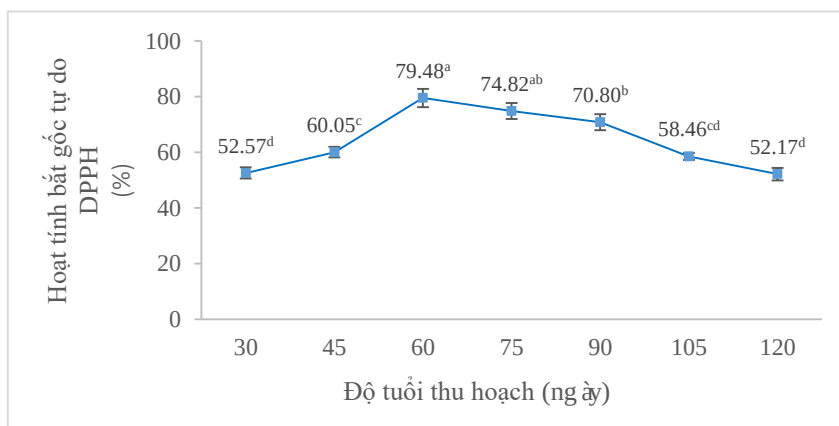
Thời gian thu hoạch rau má th à ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa, kết quả được thể hiện tr ên h ình 3.1 ÷3.3.



H ình 3.1. Ảnh hưởng thời gian thu hoạch đến hàm lượng polyphenol và chlorophyll trong dịch chiết rau má



H ình 3.2. Ảnh hưởng thời gian thu hoạch đến hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt của dịch chiết rau má



H ình 3.3. Ảnh hưởng thời gian thu hoạch đến hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của dịch chiết rau má

Qua phân tích cho thấy thời gian thu hoạch thích hợp cho rau má thì dùng làm nguyên liệu thu nhận polyphenol, chlorophyll có hoạt tính sinh học là 75 ngày.

3.2. NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT POLYPHENOL VÀ CHLOROPHYLL TỪ RAU MÁ THÌA

3.2.1. Yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa

- *Phương thức và dung môi chiết*: Kết quả nghiên cứu cho thấy phương thức chiết có hỗ trợ sóng siêu âm cho hàm lượng polyphenol, chlorophyll, hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt cao hơn so với phương thức chiết hồi lưu và ngâm chiết. Về dung môi chiết, quá trình khảo sát bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau cho thấy dung môi ethanol cho hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính chống oxy hóa cao, là lựa chọn phù hợp để chiết các hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa.

- *Nồng độ dung môi*: Hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết thay đổi theo nồng độ dung môi ethanol từ 75 ÷ 99,5(%). Nồng độ ethanol trong quá trình chiết polyphenol và chlorophyll cho hàm lượng cao nhất lần lượt là 95% và 85%; cho hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt cao nhất lần lượt là 95% và 90%.

Kết quả nghiên cứu đã chọn nồng độ của dung môi ethanol là 95% phù hợp để lựa chọn chiết các hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa.

- *Xác định nhiệt độ chiết*: Nhiệt độ chiết cũng có tác động mạnh đến hàm lượng polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa tổng, hoạt tính khử sắt của dịch chiết, chúng biến đổi thay đổi nhiệt độ chiết từ 30 ÷ 80 (°C).

Kết quả nghiên cứu đã chọn được nhiệt độ chiết 60°C là phù hợp để chiết các hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa.

- *Xác định thời gian chiết*: Qua kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa tổng, hoạt tính khử sắt của dịch chiết ở các nhiệt độ chiết khác nhau có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), chúng biến đổi theo thời gian chiết từ 30 ÷ 180 (phút).

Kết quả nghiên cứu đã chọn thời gian chiết 90 phút là phù hợp để chiết các hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa.

- *Xác định tỷ lệ DM/NL*: Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong khoảng tỷ lệ DM/NL từ 10/1 đến 50/1 (ml/g), tại tỷ lệ DM/NL 50/1 ml/g thì dịch chiết thu được có hàm lượng polyphenol, hàm lượng chlorophyll và hoạt tính sinh học cao nhất. Khi tiếp tục tăng tỷ lệ DM/NL trên 50/1 ml/g thì dịch chiết thu được có hàm lượng polyphenol, hàm lượng chlorophyll và hoạt tính sinh học tăng không đáng kể.

Từ các kết quả phân tích trên cho thấy tỷ lệ DM/NL là 50/1 ml/g là phù hợp để chiết các hợp chất polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau m á th à.

3.2.2. Tối ưu hóa quá trình chiết tách polyphenol và chlorophyll từ cây rau má

- *Xác định mô hình hồi quy*: Miền nghiên cứu của các yếu tố tác động xác định trong quá trình chiết xoay quanh điểm phù hợp, cụ thể: Nhiệt độ (X_1 : 40-80°C, $\delta_1=20$), thời gian (X_2 : 30-150 phút, $\delta_2=60$) và tỷ lệ DM/NL (X_3 : 30/1-70/1 ml/g, $\delta_3=20$). Tối ưu hóa được bố trí theo mô hình mặt đáp ứng Box-Behnken với hàm mục tiêu là Hàm lượng polyphenol Y_1 (mg acid galic/g khô), hàm lượng chlorophyll Y_2 (mg/g khô) và hoạt tính chống oxy hóa tổng Y_3 (mg acid ascorbic/g chất khô).

Phương trình hồi quy của hàm lượng polyphenol: $Y_1 = 19,74 + 1,57X_1 + 1,53X_2 + 1,19X_3 + 0,69X_1X_2 + 1,1X_1X_3 - 0,69X_2X_3 - 6,83X_1^2 - 6,46X_2^2 - 6,48X_3^2$

Phương trình hồi quy của hàm lượng chlorophyll: $Y_2 = 7,66 + 0,94X_1 + 0,43X_2 + 0,61X_3 + 0,38X_1X_2 + 0,14X_1X_3 - 0,11X_2X_3 - 2,05X_1^2 - 2,09X_2^2 - 2,68X_3^2$

Phương trình hồi quy của hoạt tính chống oxy hóa tổng: $Y_3 = 14,45 + 0,39X_1 + 0,88X_2 + 0,70X_3 + 0,81X_1X_2 + 1,48X_1X_3 - 0,45X_2X_3 - 4,28X_1^2 - 4,69X_2^2 - 5,48X_3^2$

- *Xác định thông số tối ưu*: Giải các phương trình hồi quy xác định được giá trị tối ưu của các biến (X_1 , X_2 và X_3). Dữ liệu được tính toán trên phần mềm Design Expert 12 và tính toán trùng lặp các mặt đáp ứng để tìm điểm tối ưu tiên đoán với nhiệt độ X_1 (62,92°C), thời gian X_2 (96,74 phút) và tỷ lệ DM/NL X_3 (51,95/1 ml/g) và các hàm mục tiêu tiên đoán với hàm lượng polyphenol Y_1 (19,99 mg acid galic/g chất khô), hàm lượng chlorophyll Y_2 (7,81 mg/g chất khô) và hoạt tính chống oxy hóa tổng Y_3 (14,50 mg acid ascorbic/g chất khô).

Tiến hành thực nghiệm lặp lại 3 lần ở điều kiện nhiệt độ X_1 (63°C), thời gian X_2 (97 phút) và tỷ lệ DM/NL X_3 (52/1 ml/g) và xác định các hàm mục tiêu thực nghiệm là hàm lượng polyphenol Y_1 (19,18±0,72 mg acid galic/g chất khô), hàm lượng chlorophyll Y_2 (7,45±0,16 mg/g chất khô) và hoạt tính chống oxy hóa tổng Y_3 (13,81±0,31 mg acid ascorbic/g chất khô).

3.3. NGHIÊN CỨU SẤY PHUN TẠO BỘT POLYPHENOL VÀ CHLOROPHYLL TỪ RAU MÁ THÌA

3.3.1. Xác định thông số quá trình sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol và chlorophyll

- *Xác định loại chất mang:*

Quá trình sấy sử dụng 3 loại chất mang khác nhau (maltodextrin, dextrin và gum arabic) để thu bột rau má. Hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính chống oxy hóa; độ tan, kích thước, trạng thái và đặc tính nhiệt của bột rau má được tổng hợp trên các bảng 3.2, 3.3 và 3.4.

Bảng 3.2. Độ tan và trạng thái của bột rau má

Loại bột	Độ tan	Màu sắc, trạng thái	Kiểu bao phủ của chất mang
Bột rau má với chất mang gum arabic	Dễ tan	Màu xanh tươi sáng Bột mịn, toi xốp	Bao phủ hoạt chất vào giữa hạt
Bột rau má với chất mang dextrin	Dễ tan	Màu xanh hơi đậm Bột thô, toi xốp	Bao phủ và hoạt chất nằm trong thành hạt
Bột rau má với chất mang maltodextrin	Dễ tan	Màu xanh hơi đậm, tối màu Bột thô, vón nhẹ	Hoạt chất liên kết bề mặt thành hạt

Bảng 3.3. Kích thước và độ đa phân tán của bột rau má

Loại bột	Hàm lượng polyphenol (mg acid galic/g)	Hàm lượng chlorophyll (mg/g)	Hoạt tính chống oxy hóa tổng (mg acid ascorbic/g)	Hoạt tính khử sắt (mg FeSO ₄ /g)	Kích thước hạt trung bình (nm)	Chỉ số đa phân tán (Pdi)
Bột rau má với chất mang gum arabic	13.72 ± 0.31	4.14 ± 0.14	10.62 ± 0.38	32.96 ± 1.16	157,8	0,517
Bột rau má với chất mang dextrin	9.21 ± 0.24	3.46 ± 0.09	8.07 ± 0.13	26.37 ± 0.28	318,5	0,662
Bột rau má với chất mang maltodextrin	10.35 ± 0.39	2.87 ± 0.11	8.98 ± 0.07	18.29 ± 0.22	278,5	0,756

Bảng 3. 4. Kết quả phân tích nhiệt vi sai của bột rau má

Loại bột	Nhiệt độ (°C)			
	Mất nước (T _m)	Đứt gãy liên kết (T _d)	Phân hủy nhóm chức (T _n)	Phân hủy phân tử (T _p)
Không dùng chất mang	132,94	180,11	256,85 và 288,80	422

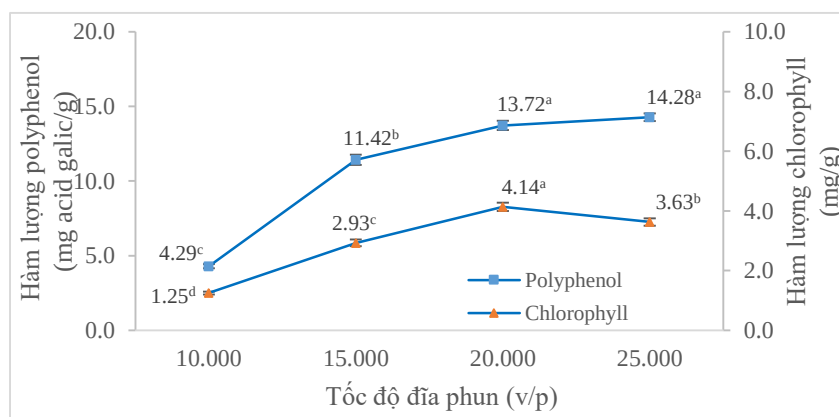
Chất mang là gum arabic	94,05	-	317,48 v à 375,35	549,33
Chất mang là dextrin	86,14	-	289,44 v à 415,68	549,01
Chất mang là maltodextrin	69,60	128,03	282,99 v à 417,08	-

Khi dùng chất mang gum arabic, bột rau má chứa hàm lượng polyphenol, chlorophyll cao; có hoạt tính chống oxy hóa cao, có độ tan tốt, có kích thước hạt nhỏ, màu xanh tươi sáng, bột có độ mịn và độ tơi xốp cao; có mật độ khối và độ đa phân tán của hạt lớn hơn khi sử dụng chất mang là maltodextrin và dextrin. Ngoài ra, đặc tính nhiệt của nó tốt như nhiệt phân hủy nhóm chức (T_n), nhiệt phân hủy phân tử (T_p) cao.

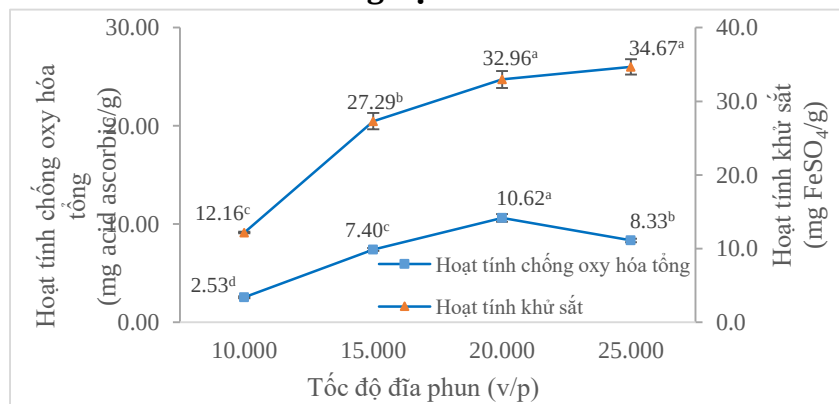
Nên gum arabic là chất mang phù hợp để sấy phun thu nhận bột rau má đã chứa polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa.

- *Xác định tốc độ đĩa phun:*

Quá trình sấy sử dụng chất mang gum arabic, hàm lượng chất mang sử dụng cho dịch sấy là 100 g/l, áp suất khấn đến 2 kg/cm², nhiệt độ khấn vào 140°C, tốc độ đĩa phun biến động là 10.000, 15.000, 20.000 và 25.000 (v/p) và lưu lượng nhập liệu 15 ml/p. Sau khi sấy thu được bột rau má đã và tiến hành định lượng hàm lượng polyphenol, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả được thể hiện trên hình 3.4 và 3.5.



Hình 3.4. Ảnh hưởng của tốc độ đĩa phun đến hàm lượng polyphenol và chlorophyll trong bột rau má

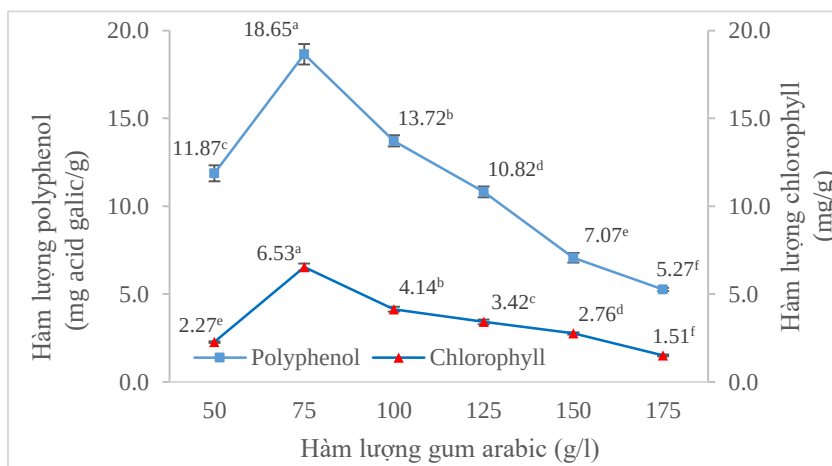


Hình 3.5. Ảnh hưởng của tốc độ đĩa phun đến hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt của bột rau má

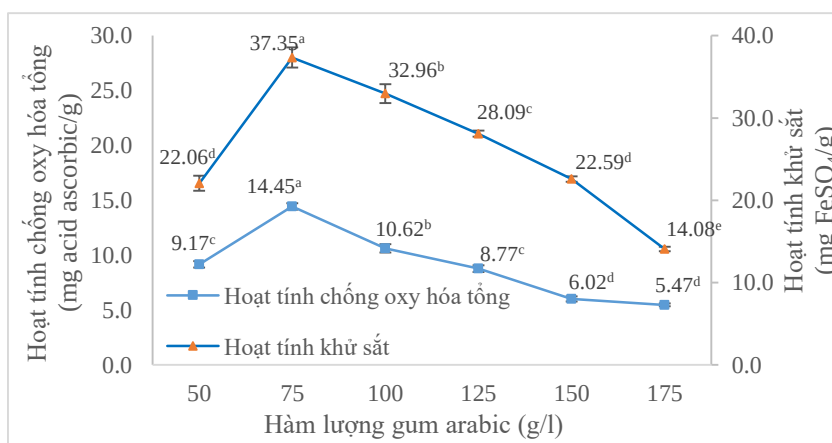
Tốc độ phun 20.000 v/p phù hợp để sấy phun thu hồi bột chế phẩm polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ dịch chiết rau má thà. Tại điều kiện sấy trên, bột polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thà dễ tan, kích thước hạt trung bình (Z) là 133,5 nm, độ đa phân tán của bột (PDI) là 0,851; nhiệt độ mất nước hấp thụ trong phân tử T_m ở 137,07°C, nhiệt độ đứt gãy các liên kết có trong thành phần của bột T_d ở 153,06°C, nhiệt độ này có sự phân hủy các nhóm chức trong phân tử T_n ở 314,21°C và 433,27°C, nhiệt độ phân hủy hoàn toàn các phân tử trong bột T_p ở 540,43°C.

- Xác định nồng độ chất mang

Quá trình sấy sử dụng chất mang gum arabic, hàm lượng chất mang sử dụng cho DS là 50, 75, 100, 125, 150 và 175 (g/l), áp suất khấn 2 kg/cm², nhiệt độ sấy 140°C, tốc độ đĩa phun là 20.000 v/p và lưu lượng nhập liệu 15 ml/p. Sau khi sấy thu được chế phẩm dạng bột tiến hành định lượng hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính chống oxy hóa, kết quả được trình bày ở các hình 3.6 và 3.7.



Hình 3.6. Ảnh hưởng của nồng độ gum arabic đến hàm lượng polyphenol và chlorophyll trong bột rau má

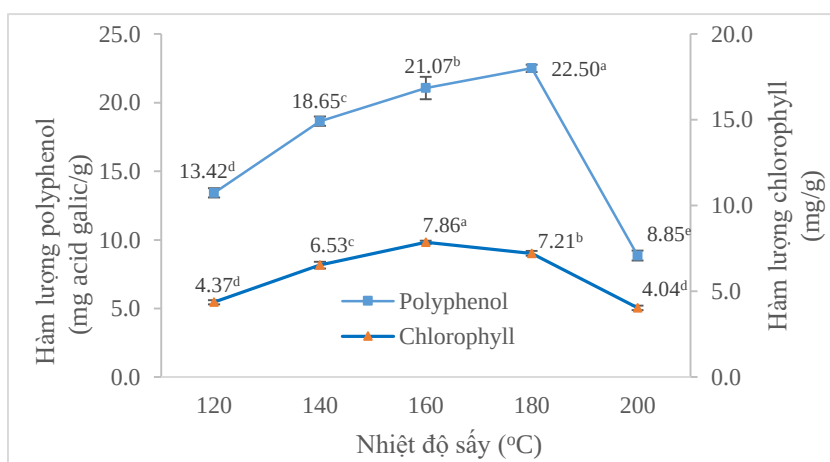


Hình 3.7. Ảnh hưởng của nồng độ gum arabic đến hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt của bột rau má

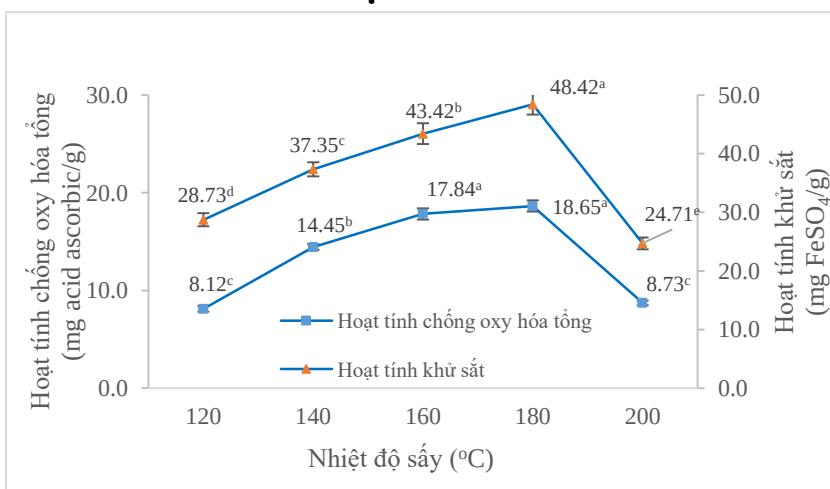
Hàm lượng chất mang là 75 g/l là phù hợp để sấy phun thu hồi bột chế phẩm polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ dịch chiết rau má thảo. Tại điều kiện sấy trên, bột polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thảo dễ tan, kích thước hạt trung bình (Z) là 135,7 nm, độ đa phân tán của bột (PDI) là 0,657; nhiệt độ mất nước hấp thụ trong phân tử T_m ở 166,63°C, nhiệt độ phân hủy nhóm chức trong phân tử T_n ở 309,24°C và nhiệt độ phân hủy hoàn toàn các phân tử trong bột T_p ở 427,35°C.

- Xác định nhiệt độ sấy phun

Quá trình sấy sử dụng chất mang gum arabic, hàm lượng chất mang sử dụng cho dịch sấy là 75 g/l, áp suất khít đến 2 kg/cm², nhiệt độ sấy biến động từ 120÷200 (°C) với bước nhảy là 20, tốc độ đĩa phun là 20.000 v/p và lưu lượng nhập liệu 15 ml/p. Sau khi sấy thu được chế phẩm dạng bột tiến hành định lượng hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính chống oxy hóa, kết quả được trình bày ở các hình 3.8 và 3.9.



Hình 3.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng polyphenol và chlorophyll trong bột rau má

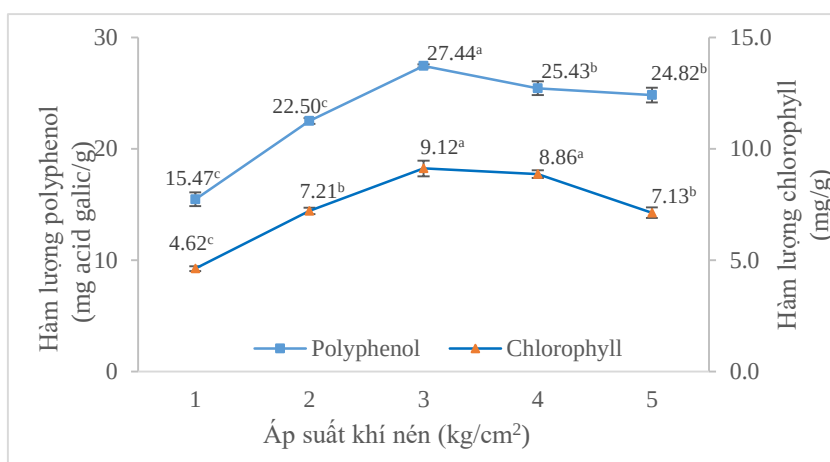


Hình 3.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt của bột rau má

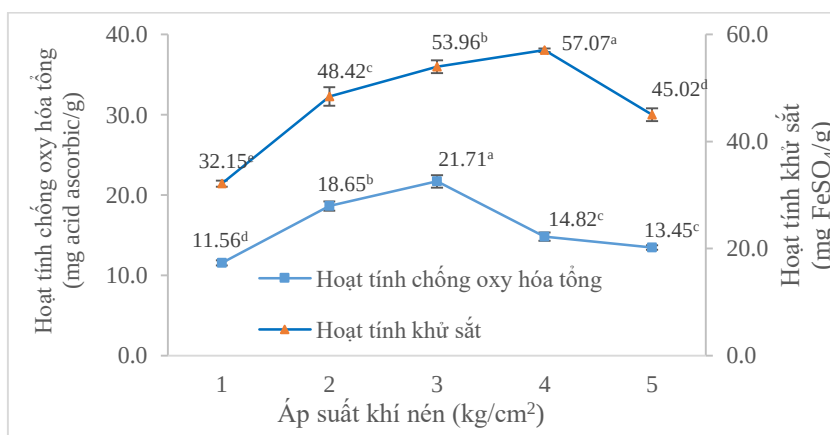
Nhiệt độ kh í v ào 180°C là phù hợp để sấy phun thu hồi bột chế phẩm polyphenol, chlorophyll có hoạt t ính chống oxy hóa từ dịch chiết rau má th à. Tại điều kiện sấy tr ên, bột polyphenol, chlorophyll có hoạt t ính chống oxy hóa từ rau má th à dễ tan, kích thước hạt trung b ình (Z) l à 173,9 nm, độ đa phân tán của bột (PDI) l à 0,432; nhiệt độ mất nước hấp thụ trong ph ân tử T_m ở 164,89°C, nhiệt độ ph ân hủy nh óm chức trong ph ân tử T_n ở 264,94°C v à 309,34°C v à nhiệt độ ph ân hủy ho àn to àn c ác ph ân tử trong bột T_p ở 433,03°C.

- Xác định áp suất khí nén

Qu á tr ình sấy sử dụng chất mang gum arabic, hàm lượng chất mang sử dụng cho dịch sấy l à 75 g/l, áp suất kh í n é n biến động từ 1 ÷ 5 (kg/cm²) với bước nhảy l à 1, nhiệt độ kh í v ào l à 180°C, tốc độ đĩa phun là 20.000 v/p và lưu lượng nhập liệu 15 ml/p. Sau khi sấy thu được chế phẩm dạng bột tiến hành định lượng hàm lượng polyphenol, chlorophyll v à c ác hoạt t ính chống oxy hóa, kết quả được tr ình bày ở c ác h ình 3.10 v à 3.11.



H ình 3.10. Ảnh hưởng của áp suất khí nén đến hàm lượng polyphenol v à chlorophyll trong bột rau má



H ình 3.11. Ảnh hưởng của áp suất khí nén đến hoạt t ính chống oxy hóa tổng v à hoạt t ính khử sắt của bột rau má

Áp suất kh ín 3 kg/cm² là phù hợp để sấy phun thu hồi bột chế phẩm polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ dịch chiết rau má th à. Tại điều kiện sấy tr ên, bột polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má th à dễ tan, kích thước hạt trung bình (Z) là 131,5 nm, độ đa phân tán của bột (PDI) là 0,437; nhiệt độ mất nước hấp thụ trong ph ân tử T_m ở 156,75°C, nhiệt độ ph ân hủy nh óm chức trong ph ân tử T_n ở 306,78°C và nhiệt độ ph ân hủy hoàn to àn c ác ph ân tử trong bột T_p ở 424,62°C.

3.3.2. Tối ưu hóa quá trình sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol và chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa

- *Xác định mô hình hồi quy:* Miền nghi ên cứu của c ác yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa trong bột sấy xác định trong quá tr ình sấy phun quanh điểm phù hợp, cụ thể: chất mang X₁: 50 ÷ 100 g/l, δ₁=25), nhiệt độ sấy (X₂: 160 ÷ 200°C, δ₂=20) và áp suất kh ín 3 (X₃: 2 ÷ 4 kg/cm², δ₃=1,0). Tối ưu hóa được bố tr í theo mô hình đáp ứng bề mặt Box-Behnken với hàm mục tiêu gồm: Hàm lượng polyphenol Y₁ (mg acid galic/g), hàm lượng chlorophyll Y₂ (mg/g) và hoạt tính chống oxy hóa tổng Y₃ (mg acid ascorbic/g).

Phương trình hồi quy của hàm lượng polyphenol: $Y_1 = 28,49 - 0,83X_1 - 1,68X_2 + 1,06X_3 - 1,68X_1X_2 - 0,76X_1X_3 - 2,18X_2X_3 - 7,35X_1^2 - 7,65X_2^2 - 5,33X_3^2$

Phương trình hồi quy của hàm lượng chlorophyll: $Y_2 = 10,61 + 0,57X_1 - 0,74X_2 - 0,32X_3 + 0,05X_1X_2 - 0,16X_1X_3 + 0,13X_2X_3 - 3,21X_1^2 - 3,02X_2^2 - 1,64X_3^2$

Phương trình hồi quy của hoạt tính chống oxy hóa tổng: $Y_3 = 19,42 - 2,38X_1 - 1,00X_2 + 0,68X_3 + 1,16X_1X_2 + 1,17X_1X_3 - 0,67X_2X_3 - 5,43X_1^2 - 3,26X_2^2 - 1,96X_3^2$

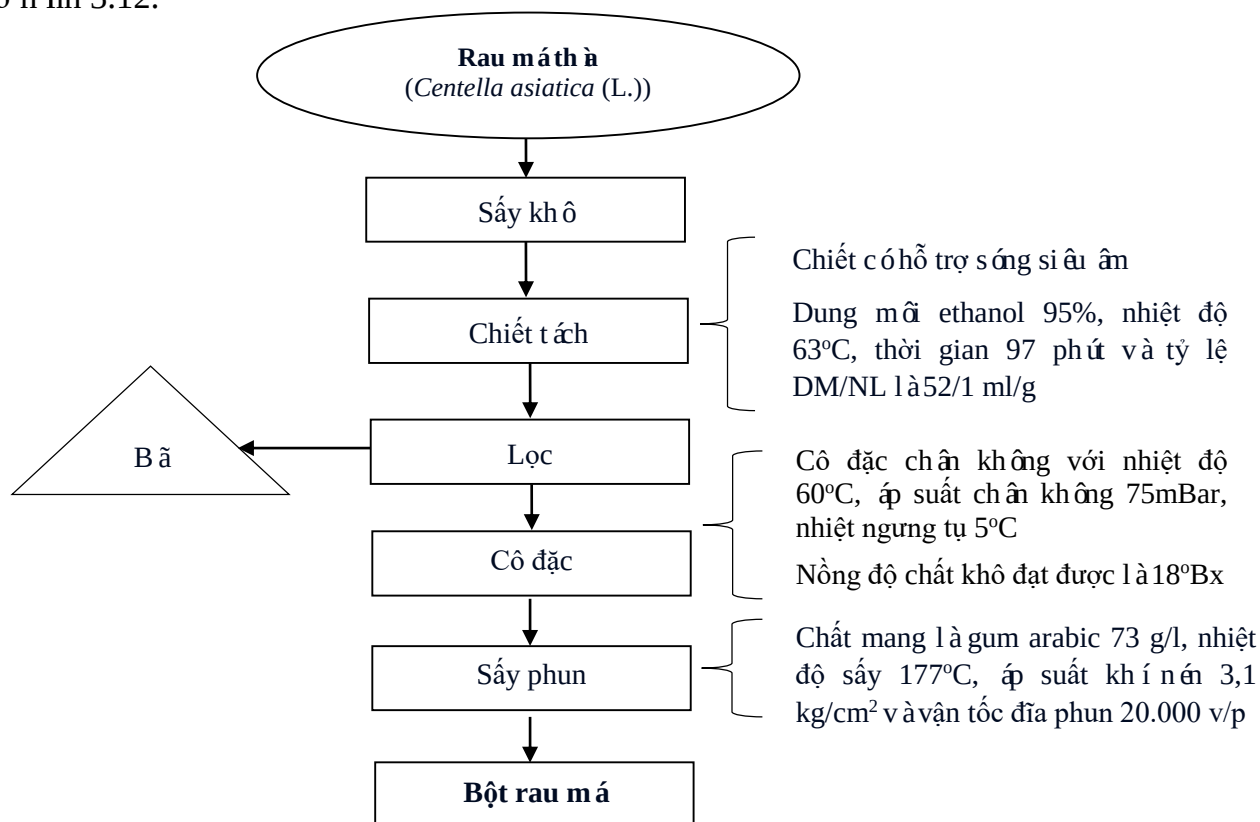
- *Xác định thông số tối ưu:* Giải c ác phương trình hồi quy xác định được giá trị tối ưu của c ác biến (X₁, X₂ và X₃). Dữ liệu được tr ình to án tr ên phần mềm Design Expert 12 và tr ình to án chập c ác bề mặt đáp ứng để tìm điểm tối ưu tiên đoán với hàm lượng chất mang X₁ (73,34 g/l), nhiệt độ sấy X₂ (177,35°C) và áp suất kh ín 3 X₃ (3,07 kg/cm²) và c ác hàm mục tiêu tiên đoán với hàm lượng polyphenol Y₁ (28,66 mg acid galic/g), hàm lượng chlorophyll Y₂ (10,57 mg/g) và hoạt tính chống oxy hóa tổng Y₃ (19,68 mg acid ascorbic/g).

Tiến hành thực nghiệm lặp lại 3 lần ở điều kiện hàm lượng chất mang X₁ (73,0 g/l), nhiệt độ sấy X₂ (177,0°C) và áp suất kh ín 3 X₃ (3,1 kg/cm²) và xác định c ác hàm mục tiêu thực nghiệm là hàm lượng polyphenol Y₁ (28,15±1,13 mg acid galic/g), hàm lượng chlorophyll Y₂ (10,62±0,27 mg/g) và hoạt tính chống oxy hóa tổng Y₃ (19,47±0,42 mg acid ascorbic/g).

3.3.3. Quy trình sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol, chlorophyll

3.3.3.1. Đề xuất quy trình sấy phun tạo bột rau má

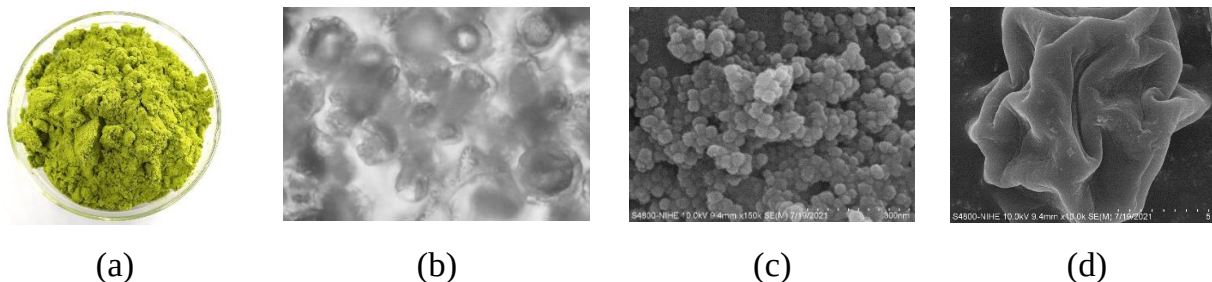
Từ các kết quả nghiên cứu được ở trên, đề xuất quy trình sấy phun tạo bột rau má chứa polyphenol và chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa với các thông số được trình bày ở hình 3.12.



Hình 3.12. Quy trình sấy phun tạo bột rau má

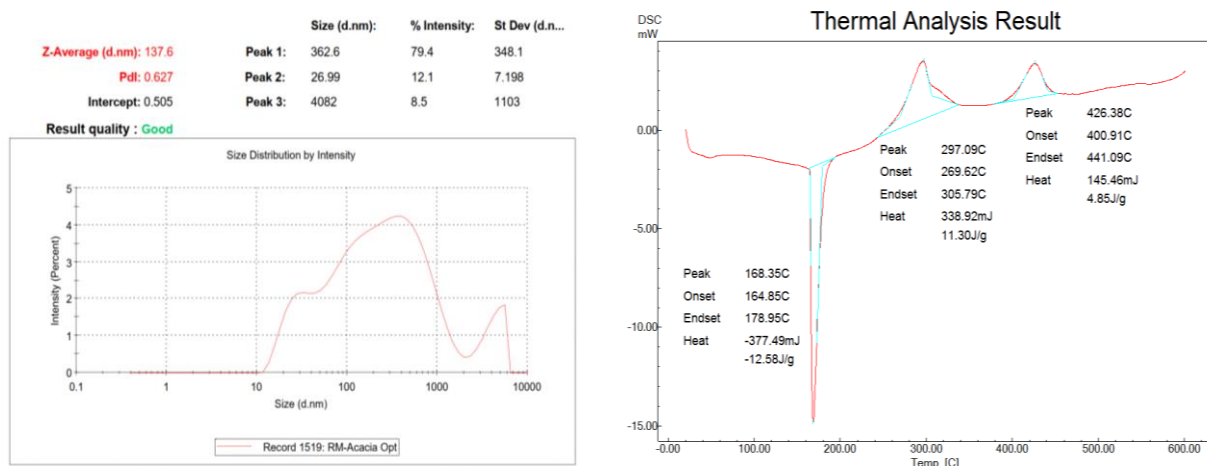
3.3.3.2. Đánh giá chất lượng bột rau má

Bột rau má chứa polyphenol và chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ cây rau má thà thu được ở điều kiện sấy tối ưu có màu sắc xanh tươi sáng; có độ mịn, độ tơi xốp cao. Tiến hành soi hình dạng của bột dưới kính hiển vi ta thấy hoạt chất được bao phủ vào bên trong bởi chất gum arabic.



Hình 3.13. Ảnh chụp bột rau má (a), hình ảnh qua kính hiển vi soi nổi (b) và kính hiển vi điện tử quét (SEM) (c, d)

Tại điều kiện sấy tối ưu trên, bột rau má chứa polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thìa có đặc điểm dễ tan, kích thước hạt trung bình (Z) là 137,6 nm, độ đa phân tán của bột (PDI) là 0,627 và có độ ẩm là 5,25%.



Hình 3.14. Phổ phân bố kích thước hạt trung bình, độ đa phân tán và nhiệt vi sai của bột rau má tại điều kiện tối ưu

Hơn nữa, bột có nhiệt độ mất nước hấp thụ trong phân tử T_m ở 168,35°C, không có peak thu nhiệt T_d thể hiện nhiệt độ có sự đứt gãy các liên kết có trong thành phần của bột, nhiệt độ phân hủy nhóm chức trong phân tử T_n ở 297,09°C và nhiệt độ phân hủy hoàn toàn các phân tử trong bột T_p ở 426,38°C.

Tiến hành phân tích các chỉ tiêu hóa học và vi sinh vật cho bột polyphenol và chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ cây rau má thìa được thu nhận được bằng kỹ thuật sấy phun ở điều kiện tối ưu. Kết quả kiểm nghiệm các chỉ tiêu hóa học (Theo quy chuẩn Việt Nam QCVN 8-2: 2011/BYT) và vi sinh vật (Theo quy chuẩn Việt Nam QCVN 8-3: 2012/BYT) cho thấy bột rau má thìa sấy phun đạt yêu cầu về các chỉ tiêu kim loại nặng và vi sinh theo quy định hiện hành của Bộ Y tế về giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm.

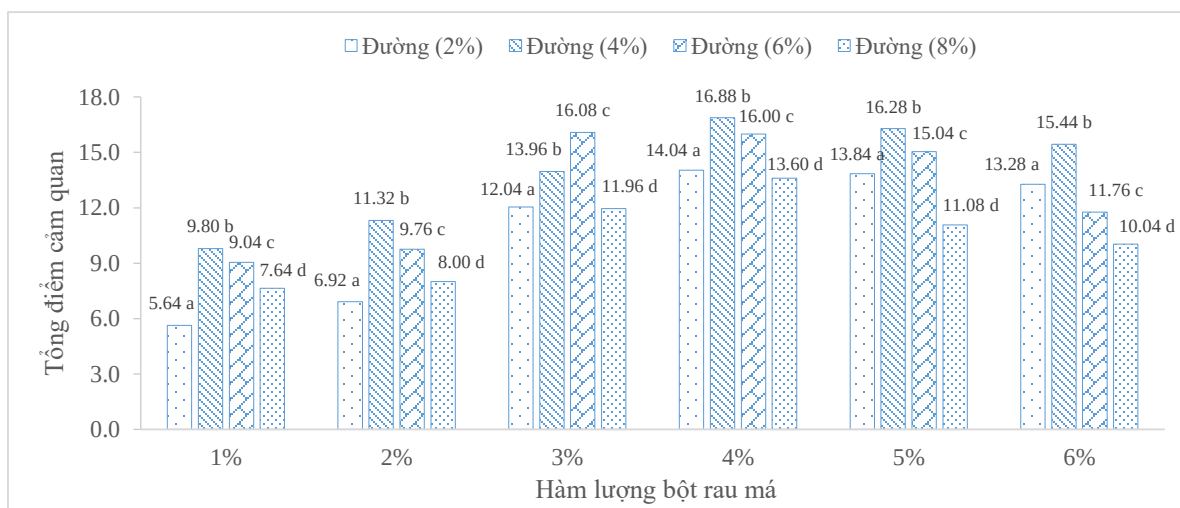
Bảng 3.5. Bảng phân tích các chỉ tiêu hóa học và vi sinh vật cho bột rau má thìa

STT	Chỉ tiêu kiểm nghiệm	Đơn vị tính	Kết quả
Chỉ tiêu hóa học			
1	Asen (As)	mg/kg	0,04
2	Cadimi (Cd)	mg/kg	KPH (MDL=0,2)
3	Chì (Pb)	mg/kg	KPH (MDL=0,2)
4	Thủy ngân (Hg)	mg/kg	KPH (MDL=0,2)

Chỉ tiêu vi sinh vật			
1	<i>Salmonella</i>	CFU/gam	KPH
2	<i>Escherichia coli</i>	CFU/gam	KPH

3.3.3.3. Xác định công thức nước rau má

Để xác định công thức nước rau má tiến hành thí nghiệm với mỗi mẫu là 50ml thể tích nước tinh khiết với các nồng độ khác nhau bột rau má là 1, 2, 3, 4, 5 và 6 (%) và đường saccharose là 2, 4, 6 và 8 (%) để tạo vị ngọt. Các mẫu nước rau má sau phối trộn được đánh giá cảm quan (TCVN 3215:1979). Kết quả được trình bày ở các hình 3.15.

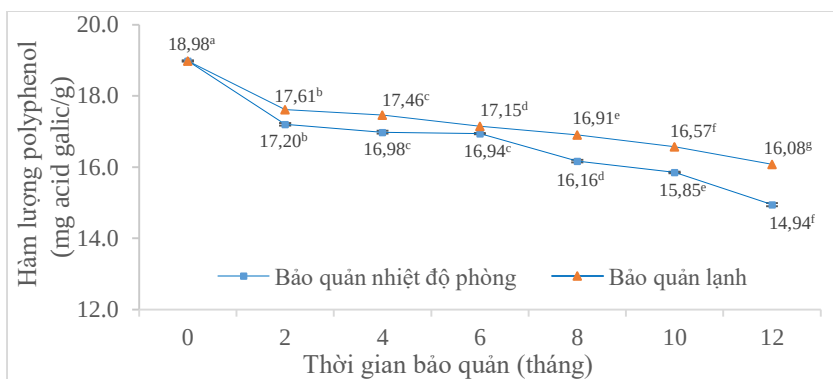


Hình 3.15. Ảnh hưởng nồng độ bột rau má và đường saccharose đến điểm cảm quan

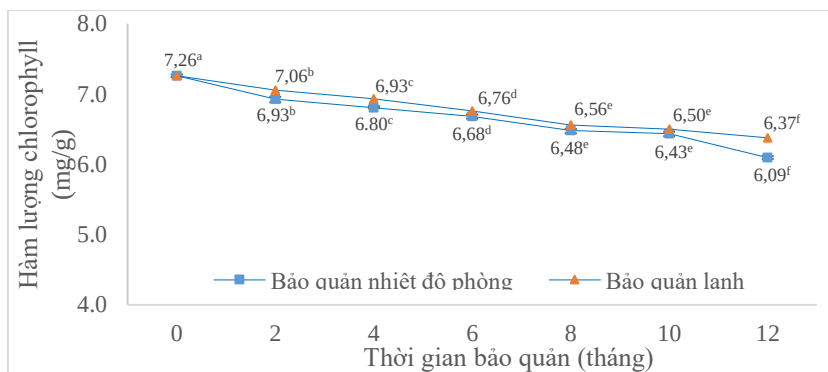
Nước rau má có hàm lượng bột rau má 4% và hàm lượng đường 4% sẽ cho tổng điểm cảm quan là 16,88 điểm và đạt loại khá, đạt điểm cao nhất so với tổng điểm cảm quan của nước rau má ở các hàm lượng bột rau má và hàm lượng đường khác đã sử dụng trong luận án. Do vậy, nước rau má có hàm lượng bột rau má 4% và hàm lượng đường 4% được chọn làm cơ sở phối trộn tạo công thức cho bột rau má thìa để làm đồ uống và khi đó nước rau má có hoạt tính chống oxy hóa tổng là $67,23 \pm 1,44$ mg acid ascorbic/100 ml, hoạt tính khử sắt là $195,63 \pm 2,99$ mg FeSO₄/100 ml, hoạt tính bắt gốc tự do DPPH là $64,73 \pm 1,47\%$.

3.3.4. Đánh giá biến động hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính của bột rau má thìa trong quá trình bảo quản

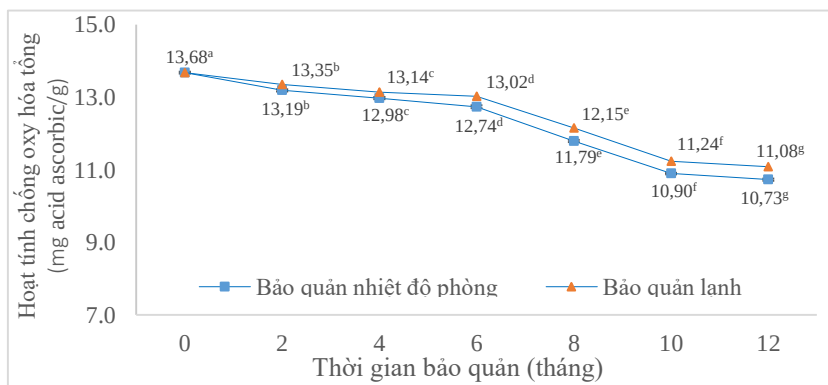
Đánh giá sự biến động hàm lượng polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa của bột rau má thìa thu được khi sấy ở điều kiện tối ưu trong quá trình bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng (30°C) và nhiệt độ lạnh (5°C), thời gian bảo quản từ 0 ÷ 12 (tháng) với bước nhảy là 2. Kết quả trình bày ở các hình 3.16 ÷ 3.19.



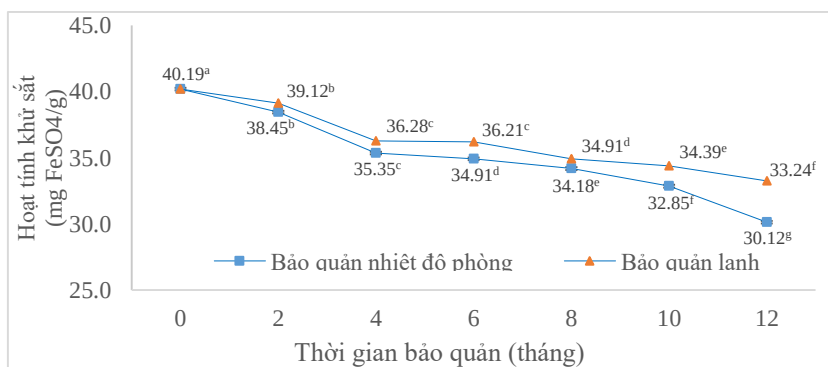
Hình 3.16. Biến động hàm lượng polyphenol trong bột rau má khi bảo quản



Hình 3.17. Biến động hàm lượng chlorophyll trong bột rau má khi bảo quản



Hình 3.18. Biến động hoạt tính chống oxy hóa tổng của bột rau má khi bảo quản



Hình 3.19. Biến động hoạt tính khử sắt của bột rau má khi bảo quản

Hàm lượng polyphenol, chlorophyll và các hoạt tính chống oxy hóa của bột rau má thì đều giảm theo thời gian bảo quản ở 2 điều kiện bảo quản: nhiệt độ phòng (30°C) và nhiệt độ lạnh (5°C). Tuy nhiên, bảo quản trong điều kiện nhiệt độ phòng thì mức độ hao giảm hàm lượng polyphenol, chlorophyll, hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt nhiều hơn so với bảo quản trong điều kiện nhiệt độ lạnh.

Cụ thể, hàm lượng polyphenol, chlorophyll, hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ phòng sau 12 tháng sẽ bị hao giảm nhiều hơn so với bảo quản trong điều kiện nhiệt độ lạnh tương ứng là 6%, 3,9%, 2,6% và 7,8%.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy luận án đã hoàn thành tất cả các nội dung nghiên cứu đã đề xuất thể hiện qua các kết luận được rút ra từ quá trình nghiên cứu của luận án:

1) Đã tiến hành định danh loài rau má thừ sử dụng trong nghiên cứu bằng kỹ thuật phân tích trình tự gen DNA và nhận thấy DNA của loài rau má thừ dùng trong nghiên cứu có mức độ tương đồng cao (98,44% - 98,76%) với các trình tự của vùng *matK* và mức độ tương đồng cao (98,21-100%) với các trình tự của vùng *ITS* của loài *Centella asiatica* có sẵn trên NCBI. Kết quả này khẳng định mẫu rau má mà luận án thu nhận tại Nha Trang - Khánh Hòa thuộc loài rau má thừ (*Centella asiatica* (L.) Urban).

2) Đã tiến hành đánh giá thành phần hóa học chủ yếu của rau má thừ thu mẫu tại Nha Trang - Khánh Hòa cho thấy rau má thừ thu mẫu tại Nha Trang - Khánh Hòa có hàm lượng polyphenol là 13,56 mg acid galic/g khô, hàm lượng chlorophyll là 4,73 mg/g khô, hoạt tính chống oxy hóa tổng là 6,06 mg acid ascorbic/g khô, hoạt tính khử sắt là 22,89 mg FeSO₄/g khô và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH là 79,48 %. Ngoài ra trong rau má thừ có chứa một số hợp chất có hoạt tính sinh học như triterpenoid, asiaticoside, quercetin, acid rosmarinic.

3) Đã nghiên cứu công đoạn chiết rút polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa từ rau má thừ theo phương pháp ngâm chiết có hỗ trợ sóng siêu âm sử dụng ethanol 95% ở pH 7 và thu được các điều kiện tối ưu cho quá trình chiết: nhiệt độ chiết tối ưu là 63°C, thời gian chiết tối ưu là 97 phút và tỷ lệ DM/NL tối ưu là 52 ml/g. Ở điều kiện chiết tối ưu, dịch chiết rau má thừ thu được có hàm lượng polyphenol, chlorophyll, hoạt tính chống oxy hóa tổng, hoạt tính khử sắt và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH tương ứng là 19,18±0,72 (mg acid galic/g khô), 7,45±0,16 (mg/g khô), 13,81±0,31 (mg acid ascorbic/g khô), 37,31±1,32 (mg FeSO₄/g khô) và 81,66±3,4%.

4) Đã nghiên cứu sấy phun tạo bột rau má thừ chứa polyphenol, chlorophyll có hoạt tính chống oxy hóa và thu được một số thông số thích hợp cho công đoạn sấy phun: chất mang thích hợp là gum arabic, vận tốc đĩa phun thích hợp là 20.000 v/p và các điều kiện sấy phun tối ưu: nồng độ gum arabic tối ưu là 73 g/l, nhiệt độ sấy tối ưu là 177°C, áp suất khí nén tối ưu là 3,1 kg/cm². Bột rau má thừ sấy phun theo các thông số tối ưu có hàm lượng polyphenol, chlorophyll, hoạt tính chống oxy hóa tổng và hoạt tính khử sắt tương ứng là 28,15±1,13 mg acid galic/g, 10,62±0,27 mg/g, 19,47±0,42 mg acid ascorbic/g và 59,50±2,08 mg FeSO₄/g. Bột rau má thừ thu nhận có độ ẩm thấp 5,25%, kích thước hạt trung bình là 137,6 nm và bột rau má có các đặc tính nhiệt tốt như: nhiệt độ mất nước hấp

thu, nhiệt độ phân hủy các nhóm chức, nhiệt độ phân hủy hoàn toàn các phân tử lần lượt là 168,35 °C, 297,09°C, 426,38°C.

5) Đã tiến hành nghiên cứu bảo quản bột rau má thìa trong thời gian 12 tháng ở nhiệt độ 30°C và 5°C cho thấy bột rau má thìa bảo quản ở 5°C có mức độ biến đổi các hợp chất chậm hơn khi bảo quản ở 30°C. Sau 12 tháng bảo quản ở nhiệt độ 30°C và 5°C, bột rau má thìa có mức độ suy giảm hàm lượng polyphenol, chlorophyll, hoạt tính chống oxy hóa tổng, hoạt tính khử sắt tương ứng là (21,3%; 16,1%; 21,6%, 25,1%) và (15,3%; 12,2%; 19,0%; 17,3 %).

6) Đã tiến hành xây dựng công thức phối trộn tạo 100 ml đồ uống rau má thìa với tỷ lệ bột rau má thìa là 4g, đường saccharose là 4g và thu được đồ uống rau má có chất lượng cảm quan tốt. Với công thức pha như trên, đồ uống rau má có hoạt tính chống oxy hóa tổng là $67,23 \pm 1,44$ mg acid ascorbic/100 ml, hoạt tính khử sắt là $195,63 \pm 2,99$ mg FeSO₄/100 ml và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH là $64,73 \pm 1,47$ %.

2. KIẾN NGHỊ

Từ quá trình nghiên cứu của luận án, cho phép đề xuất một số kiến nghị:

- Cần tiếp tục nghiên cứu và đánh giá về một số hoạt tính sinh học như: hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn, kháng virus; hoạt tính tăng cường miễn dịch cũng như nghiên cứu sản xuất sản phẩm ở quy mô lớn để tính toán chi phí sản xuất làm cơ sở cho việc tiến tới phát triển thương mại sản phẩm bột rau má sau này.

- Cần tiếp tục nghiên cứu và đánh giá về một số hợp chất có hoạt tính sinh học khác có trong bột rau má như: asiaticoside, quercetin, acid rosmarinic.