

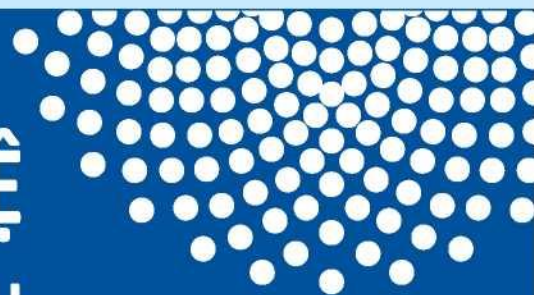
ISSN 2615-9015

Vol 7 – No 5

Tạp chí

KHOA HỌC và CÔNG NGHỆ

- Đại học NGUYỄN TẤT THÀNH



Journal of Science and Technology

- Nguyen Tat Thanh University



NGUYEN TAT THANH

Tổng Biên tập

Đặng Vũ Ngoạn

dvngoan@ntt.edu.vn

Thư kí Tòa soạn

Bạch Long Giang

blgiang@ntt.edu.vn

Hội đồng Biên tập

1. Bùi Chí Bửu, Viện Khoa học
Nông nghiệp Miền Nam

2. Nguyễn Hữu Đức,
Đại học Quốc gia Hà Nội

3. Phạm Hoàng,
Đại học Rutgers, Hoa Kỳ

4. Trần Thị Hồng,
Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

5. Trần Đại Lâm,
Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ
Việt Nam

6. Nguyễn Lộc,
Viện Khoa học Giáo dục Việt Nam

7. Nguyễn Thị Mỹ Lộc,
Đại học Quốc gia Hà Nội

8. Trần Ái Cẩm,
Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

9. Rajagopal Premkumar, Đại học
Khoa học và Công nghệ Malaysia

10. Vương Thanh Sơn,
Đại học British Columbia, Canada

11. Lê Văn Tấn, Trường Đại học
Công nghiệp TP.HCM

12. Nguyễn Văn Thanh,
Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

13. Nguyễn Ngọc Thành,

14. Phạm Hùng Việt,
Đại học Quốc gia Hà Nội

15. Phước Minh Hiệp,
Trường Đại học Quốc tế Sài Gòn

16. Wan-Young Chung, Đại học
Quốc gia Pukyong

17. Chang-Hee Hong, Đại học
Quốc gia Chonbuk

18. Susan Matthew,
Đại học East Anglia, Anh Quốc

19. Nguyễn Hoàng Lộc,
Đại học Huế

20. Sumaiya Zainal Abidin
Đại học Malaysia Pahang Al-Sultan
Abdullah

21. Phan Thị Tươi,
Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

22. Nguyễn Công Hoan, Trường
Đại học Công nghiệp TP.HCM

23. Huỳnh Quốc Thắng, Trường
Đại học Khoa học Xã hội và Nhân
văn TP.HCM

24. Bành Tiến Long, Đại học Bách
khoa Hà Nội

25. Nguyễn Đức An, Đại học Bách
khoa Hà Nội

26. Hà Nam Khánh Giao, Học
viện Hàng không Việt Nam

27. Trần Trung, Học viện Dân tộc
Việt Nam

28. Trần Công Luận,
Trường Đại học Nam Cần Thơ

29. Nghiêm Đức Long, Đại học Kỹ
thuật Sydney, Australia

30. Ngô Hữu Hào, Đại học Kỹ
thuật Sydney, Australia

31. Đinh Đức Anh Vũ,
Trường Đại học Quốc tế
TP.HCM

Mục đích

Công bố, giới thiệu các công trình
khoa học và công nghệ, khoa học xã
hội và nhân văn, thông tin khoa học
công nghệ trong và ngoài nước.

Thúc đẩy hoạt động nghiên cứu khoa
học của cán bộ, giảng viên và sinh viên
nhà trường, góp phần nâng cao chất
lượng đào tạo nguồn nhân lực và
chuyển giao công nghệ cho các đơn vị
sản xuất, doanh nghiệp có nhu cầu.

Đáp ứng nhu cầu phát triển nghiên cứu
khoa học và trao đổi học thuật ngày
càng tăng giữa các nhà khoa học, các
tổ chức nghiên cứu khoa học; khuyến
khích các nhà nghiên cứu trẻ và thu hút
các nhà khoa học có uy tín đăng tải kết
quả nghiên cứu.

Trụ sở Tòa soạn

300A Nguyễn Tất Thành, P. 13, Q. 4,
Tp. HCM.

tel.: 028.7108.0889 (ext:341)

fax: 028.39404759

e-mail: tapchikhcn@ntt.edu.vn

Giấy phép xuất bản

số 580/GP-BTTTT, ngày 22 tháng 11
năm 2017; giấy phép bổ sung số
3965/BTTTT-CBC, ngày 23 tháng 09
năm 2024; xuất bản 2 tháng /1 kì.

In 500 bản, khổ 20,5 x 27cm tại
Cty CPTM In Nhật Nam - 007 lô I,
KCN Tân Bình, P. Tây Thạnh, Q. Tân
Phú, Tp.HCM. In xong và nộp lưu
chiếu ngày 28 tháng 12 năm 2024.

Truy cập online

- Vietnam Journals Online (VJOL -
Tạp chí Khoa học Việt Nam Trực
tuyến): <https://www.vjol.info.vn>

- Website Tạp chí KHCN Đại học
Nguyễn Tất Thành:

<http://jst.ntt.edu.vn>

Ứng dụng mô hình stacking kết hợp smote và tối ưu hóa Bayesian đánh giá rủi ro tín dụng

Dương Hón Minh

Khoa Dược - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

dhminh@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Dự đoán rủi ro tín dụng là nhiệm vụ quan trọng đối với các tổ chức tài chính nhằm giảm thiểu nguy cơ vỡ nợ và tối ưu hóa quyết định cho vay. Trong bối cảnh sự phát triển nhanh chóng của các kỹ thuật học máy, nhiều phương pháp phân loại đã được phát triển để cải thiện khả năng dự đoán rủi ro tín dụng. Nghiên cứu này áp dụng mô hình stacking để đánh giá rủi ro tín dụng, kết hợp dự đoán từ nhiều mô hình học máy khác nhau, bao gồm XGBoost, Random Forest, và CatBoost. Một mô hình meta, hồi quy logistic, được sử dụng để tối ưu hóa dự đoán từ các mô hình cơ sở để đưa ra dự đoán. Dữ liệu được xử lý bằng kỹ thuật SMOTE để cân bằng và các siêu tham số của các mô hình cơ sở được tối ưu hóa thông qua phương pháp tối ưu hóa Bayesian. Kết quả cho thấy mô hình stacking đạt được độ chính xác 95,50 % và chỉ số ROC-AUC đạt 98,15 %, chứng tỏ độ tin cậy cao của các dự đoán. Kết quả này cung cấp về khả năng ứng dụng của các mô hình học máy trong việc đánh giá rủi ro tín dụng, hỗ trợ các tổ chức tài chính trong việc ra quyết định cấp tín dụng cho cá nhân.

Nhận 02/09/2024

Được duyệt 03/12/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa
học máy,
học máy tổ hợp, tối ưu
hóa Bayesian, SMOTE,
dự đoán rủi ro tín dụng

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

1.1 Đặt vấn đề

Dự đoán rủi ro tín dụng (RRTD) là một khía cạnh quan trọng trong quản lý rủi ro tài chính, đóng vai trò then chốt trong các quyết định của các tổ chức tài chính. Dự đoán RRTD liên quan đến việc đánh giá khả năng trả nợ của người vay, từ đó xác định khả năng vỡ nợ. Việc dự đoán RRTD hiệu quả giúp các tổ chức tài chính giảm thiểu tổn thất, tối ưu hóa quyết định cho vay và quản lý danh mục đầu tư một cách hiệu quả hơn [1].

Dự đoán RRTD có vai trò thiết yếu vì nhiều lý do. Thứ nhất, dự đoán RRTD giúp các tổ chức tài chính giảm thiểu tổn thất do vỡ nợ. Bằng cách đánh giá chính xác mức độ tin cậy của người vay, các tổ chức cho vay có

thể đưa ra các quyết định hợp lý về việc chấp nhận hay từ chối các đơn xin vay. Thứ hai, dự đoán RRTD hiệu quả góp phần vào sự ổn định của hệ thống tài chính. Khi các ngân hàng và tổ chức cho vay có thể dự đoán chính xác khả năng vỡ nợ, các ngân hàng và tổ chức cho vay có thể quản lý dự trữ vốn tốt hơn và giảm thiểu nguy cơ phá sản. Thứ ba, đánh giá RRTD chính xác giúp cung cấp tín dụng cho những người vay xứng đáng, thúc đẩy tăng trưởng kinh tế và tăng cường tài chính [2].

Từ thập niên 1960, hệ thống điểm tín dụng đã được áp dụng để đánh giá xem một người vay có đủ điều kiện và có khả năng trả nợ đúng hạn hay không. Điểm tín dụng hỗ trợ các quyết định tín dụng bằng cách sử dụng

các mô hình toán học để chuyển đổi dữ liệu thu thập từ khách hàng, hệ thống nội bộ và các cơ quan tín dụng thành một điểm số. Trong lĩnh vực tín dụng bán lẻ, phương pháp này không chỉ giảm bớt tính chủ quan trong việc đánh giá của các chủ nợ mà còn tối ưu hóa giá trị của thông tin hiện có và tiết kiệm đáng kể chi phí nhân lực [3].

Trải qua nhiều năm phát triển, ngoài hồi quy logistic, các phương pháp học có giám sát như rừng ngẫu nhiên, XGBoost và CatBoost đã phát triển nhanh chóng. Hồi quy logistic xuất hiện từ những năm 1950 và là một trong những phương pháp cơ bản trong phân tích dữ liệu. Các thuật toán tiên tiến như rừng ngẫu nhiên, XGBoost và CatBoost sau đó đã được phát triển và ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực. Sự hỗ trợ của công nghệ giúp các nhà nghiên cứu, ngân hàng và tổ chức tài chính sử dụng các thuật toán này để đào tạo mô hình dự đoán khả năng đủ điều kiện vay dựa trên lịch sử tín dụng và dữ liệu khác, giúp dễ dàng chọn lọc những người đủ điều kiện trước khi phê duyệt khoản vay [4, 5].

Một trong những kỹ thuật tiên tiến và hiệu quả được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực học máy là phương pháp học máy tổ hợp (Ensemble Learning). Đây là một kỹ thuật mạnh mẽ nhằm kết hợp nhiều mô hình học máy để tạo ra một mô hình dự đoán có độ chính xác cao hơn so với bất kỳ mô hình đơn lẻ nào. Các phương pháp học máy tổ hợp phổ biến bao gồm Bagging (Bootstrap Aggregating), Boosting, và Stacking. Gần đây, stacking đã được sử dụng để cải thiện độ chính xác trong việc dự đoán RRTD [6, 7].

1.2 Mục tiêu nghiên cứu

Mặc dù các phương pháp truyền thống như hồi quy logistic và các thuật toán học máy tiên tiến như rừng ngẫu nhiên, XGBoost và CatBoost đã được áp dụng rộng rãi trong dự đoán RRTD, vẫn tồn tại một số hạn chế và thách thức cần giải quyết.

Thứ nhất, hầu hết các nghiên cứu hiện tại chủ yếu tập trung vào việc cải thiện độ chính xác của các mô hình đơn lẻ, nhưng ít chú ý đến khả năng tổng hợp và kết hợp các mô hình để tạo ra một mô hình dự đoán mạnh mẽ hơn. Các phương pháp học máy tổ hợp như Bagging và Boosting đã được nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, nhưng việc áp dụng xếp chồng, một kỹ

thuật kết hợp mạnh mẽ hơn, trong lĩnh vực dự đoán RRTD vẫn còn hạn chế. Điều này mở ra cơ hội nghiên cứu về việc tận dụng các mô hình cơ sở mạnh mẽ và xây dựng mô hình meta hiệu quả để cải thiện hiệu suất dự đoán.

Thứ hai, mặc dù nhiều nghiên cứu đã áp dụng các kỹ thuật tối ưu hóa mô hình, phương pháp tối ưu hóa Bayes (Bayesian Optimization – BO) chưa được khai thác triệt để trong việc tìm kiếm và lựa chọn các base learner tối ưu. BO có tiềm năng lớn trong việc tối ưu hóa quá trình huấn luyện mô hình, đặc biệt khi kết hợp với các phương pháp học máy tổ hợp như xếp chồng. Tuy nhiên, ứng dụng của BO trong việc cải thiện hiệu suất của các mô hình xếp chồng trong dự đoán RRTD vẫn chưa được khám phá đầy đủ.

Cuối cùng, các nghiên cứu hiện tại thường tập trung vào một số chỉ số đánh giá nhất định như độ chính xác, độ nhạy và chỉ số F1. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu đánh giá toàn diện các chỉ số quan trọng khác như ROC AUC hay khả năng tổng quát hóa của mô hình trên các tập dữ liệu thực tế. Do đó, cần có thêm nghiên cứu để đánh giá toàn diện hiệu quả của các mô hình và đề xuất các phương pháp cải tiến có khả năng ứng dụng trong thực tiễn.

Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là áp dụng kỹ thuật xếp chồng kết hợp với phương pháp tối ưu hóa Bayes để xây dựng một hệ thống dự đoán RRTD vượt trội, đồng thời đánh giá toàn diện các chỉ số hiệu suất của mô hình nhằm mang lại giá trị thực tiễn cao cho các tổ chức tài chính.

2 Cơ sở lý thuyết

2.1 Kỹ thuật xây dựng đặc trưng

Tạo đặc trưng là một bước quan trọng trong quy trình học máy, bao gồm việc tạo ra các đặc trưng mới hoặc chuyển đổi các đặc trưng hiện có để cải thiện hiệu suất của mô hình. Đầu tiên, kiểm tra và loại bỏ các giá trị bị thiếu trong tập dữ liệu để đảm bảo tính đầy đủ của thông tin.

Sau đó, tiến hành xử lý các biến phân loại bằng các kỹ thuật mã hóa phù hợp. Đối với các biến có số lượng giá trị khác nhau nhỏ hơn hoặc bằng 10, áp dụng phương pháp mã hóa nhãn để chuyển đổi các giá trị phân loại thành các số nguyên, giúp đơn giản hóa dữ liệu. Đối với

các biến phân loại có số lượng giá trị lớn hơn 10, sử dụng phương pháp mã hóa một nóng [8]. Kỹ thuật này tạo ra các cột mới đại diện cho từng giá trị riêng biệt và loại bỏ cột biến gốc, giúp tránh hiện tượng đa cộng tuyến và cải thiện độ chính xác của mô hình. Đa cộng tuyến có thể gây ra vấn đề nghiêm trọng trong quá trình huấn luyện mô hình, làm giảm khả năng dự đoán và tăng sai số của mô hình. Sau đó dùng bộ chuẩn hóa chuẩn (Standard scaler) để chuẩn hóa các dữ liệu [9].

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma} \quad (1)$$

X là giá trị của đặc trưng cần chuẩn hóa.

μ là trung bình (mean) của đặc trưng.

σ là độ lệch chuẩn (standard deviation) của đặc trưng.

2.2 SMOT

SMOTE (Synthetic Minority Over-sampling Technique) là một phương pháp được sử dụng trong học máy để giải quyết vấn đề mất cân bằng lớp trong các tập dữ liệu. Nó hoạt động bằng cách tạo ra các mẫu tổng hợp cho lớp thiểu số để cân bằng phân phối các lớp. Kỹ thuật này cải thiện hiệu suất của mô hình bằng cách giảm thiểu sự thiên lệch đối với lớp đa số, điều này có thể xảy ra khi huấn luyện trên các tập dữ liệu mất cân bằng. SMOTE tạo ra các mẫu mới bằng cách nội suy giữa các ví dụ lớp thiểu số hiện có [12].

2.3 Tối ưu hóa Bayesian – Bayesian Optimization (BO)

Quá trình tối ưu tham số là một bước quan trọng không thể thiếu trong việc huấn luyện mô hình học máy với hiệu suất đánh giá cao. Việc xác định các tham số tối ưu cho mô hình không chỉ cải thiện độ chính xác mà còn giúp tăng cường khả năng tổng quát hóa của mô hình trên các tập dữ liệu khác nhau.

Tối ưu hóa Bayesian là một phương pháp hiệu quả để tối ưu hóa các hàm hộp đen (black-box functions) có chi phí đánh giá cao. BO đặc biệt hữu ích trong việc tinh chỉnh siêu tham số cho các mô hình học máy. Không giống như các kỹ thuật tối ưu hóa truyền thống, Tối ưu hóa Bayesian sử dụng một mô hình xác suất để dự đoán hiệu suất của các tổ hợp tham số khác nhau và chọn những tổ hợp hứa hẹn nhất để đánh giá. Cách tiếp cận này giảm số lượng các lần đánh giá hàm cần thiết để tìm các tham số tối ưu [13].

2.4 Mô hình học máy

Trong nghiên cứu này, ba mô hình học máy được lựa chọn để tiến hành nghiên cứu bao gồm XGBoost, rừng ngẫu nhiên, và CatBoost.

a) XGBoost (XGB)

XGBoost là một triển khai hiệu quả và có khả năng mở rộng của các máy tăng cường độ dốc. XGBoost nổi tiếng về tốc độ và hiệu suất, khả năng xử lý dữ liệu thưa, và các kỹ thuật điều chỉnh giúp ngăn ngừa hiện tượng quá khớp (overfitting). Hàm mục tiêu trong XGBoost kết hợp một hàm mất mát và một thuật ngữ điều chỉnh, cải thiện cả độ chính xác dự đoán và khả năng giải thích [15].

b) Rừng ngẫu nhiên

Rừng ngẫu nhiên là một phương pháp học tập tập hợp xây dựng nhiều cây quyết định trong quá trình huấn luyện. Rừng ngẫu nhiên sử dụng phương pháp bagging, trong đó mỗi cây được huấn luyện trên một tập con ngẫu nhiên của dữ liệu, và các đặc trưng được chọn ngẫu nhiên tại mỗi điểm chia. Dự đoán cuối cùng được thực hiện bằng cách tổng hợp các dự đoán của tất cả các cây, giảm hiện tượng quá khớp của mô hình và cải thiện khả năng tổng quát [16].

c) CatBoost

CatBoost là một thuật toán tăng cường độ dốc xử lý hiệu quả các đặc trưng phân loại mà không cần tiền xử lý nhiều. CatBoost sử dụng tăng cường có thứ tự để giảm rò rỉ mục tiêu và cung cấp hiệu suất mạnh mẽ trên nhiều loại dữ liệu. CatBoost đặc biệt hữu ích trong việc xử lý các biến phân loại phổ biến trong các tập dữ liệu thực tế [17].

2.5 Mô hình xếp chồng

Mô hình xếp chồng là một kỹ thuật trong học máy, với nhiều mô hình được kết hợp để cải thiện hiệu suất dự đoán so với việc sử dụng một mô hình đơn lẻ. Các mô hình đơn lẻ được gọi là mô hình cơ sở, sử dụng một mô hình để kết hợp chúng thành mô hình meta bằng một kỹ thuật học máy khác, trong nghiên cứu này sử dụng hồi quy phi tuyến – *logistic regression*.

Mô hình stacking kết hợp dự đoán của nhiều mô hình học máy bằng cách sử dụng một mô hình meta để học cách tối ưu từ các dự đoán đó đã được triển khai ở nhiều nghiên cứu trước đây và cho thấy kết quả rất khả quan [7, 14]. Lý do chọn cả ba mô hình này làm mô hình cơ

sở là vì chúng mang lại sự đa dạng trong phương pháp học. Mỗi mô hình có những ưu điểm khác nhau, giúp hệ thống stacking khai thác tốt hơn các khía cạnh khác nhau của dữ liệu:

- *Rừng ngẫu nhiên* tốt trong việc giảm quá khớp bằng cách học từ các cây độc lập.
- *XGBoost* và *CatBoost* có khả năng tối ưu hóa hiệu suất và tránh quá khớp thông qua boosting, một kỹ thuật học tuần tự cải thiện mô hình.
- Bằng cách kết hợp các mô hình có khả năng tổng quát hóa cao và giảm quá khớp, mô hình xếp chồng sẽ tạo ra kết quả mạnh mẽ và ổn định hơn.

Hồi quy logistic được sử dụng làm mô hình meta trong mô hình xếp chồng ở nghiên cứu này. Đây là một mô hình phi tuyến được sử dụng cho phân loại nhị phân, ước lượng xác suất rằng một điểm đầu vào thuộc về một lớp nhất định. Bằng cách lấy các dự đoán từ các mô hình cơ sở làm đặc trưng đầu vào, hồi quy logistic có thể học cách gán trọng số tối ưu cho từng dự đoán của mô hình cơ sở, từ đó cải thiện hiệu suất dự đoán tổng thể [18, 19].

2.6 Các độ đo đánh giá

Đánh giá hiệu suất là một việc quan trọng và việc lựa chọn các độ đo nào cũng quan trọng không kém.

Ma trận nhầm lẫn (confusion matrix) là một công cụ mạnh mẽ và quan trọng trong việc đánh giá hiệu suất của các mô hình học máy, đặc biệt là trong các bài toán phân loại. Ma trận nhầm lẫn cho phép thấy được số lượng dự đoán đúng và sai của mô hình cho mỗi lớp. Ở Bảng 1, nó cho biết số lượng:

- True Positives (TP): số lượng dự đoán đúng cho lớp dương.
- True Negatives (TN): số lượng dự đoán đúng cho lớp âm.
- False Positives (FP): số lượng dự đoán sai, mô hình dự đoán là dương nhưng thực tế là âm.
- False Negatives (FN): số lượng dự đoán sai, mô hình dự đoán là âm nhưng thực tế là dương.

Bảng 1 Ma trận nhầm lẫn

Chân trị	+	-
Dự đoán +	TP	FP
Dự đoán -	FN	TN

ROC AUC là một trong những chỉ số quan trọng để đánh giá hiệu suất của các mô hình phân loại nhị phân.

ROC AUC đo lường khả năng phân biệt giữa các lớp của mô hình, giúp hiểu rõ hơn về hiệu suất tổng thể của mô hình trong việc xác định các trường hợp dương tính và âm tính.

$$AUC = \int_0^1 TPR d(FPR) \quad (2)$$

Trong đó:

TPR (True Positive Rate) hay còn gọi là Độ nhạy (Recall).

FPR (False Positive Rate) được tính bằng công thức:

$$FPR = \frac{FP}{FP + TN} \quad (3)$$

3 Phương pháp nghiên cứu

3.1 Mô tả dữ liệu

Để dự đoán RRTD hiệu quả bằng học máy, cần có dữ liệu chất lượng cao và kỹ thuật tạo đặc trưng mạnh mẽ. Dữ liệu dùng để huấn luyện các mô hình dự đoán trong nghiên cứu này được lấy từ tập "Tập dữ liệu RRTD" (Credit Risk Dataset) trên Kaggle. Tập dữ liệu bao gồm 11 cột và 32 581 dòng dữ liệu. Trong đó, cột *Loan_status* là cột mục tiêu cần dự đoán, còn 10 cột còn lại là các đặc trưng để dự đoán cột mục tiêu.

Bảng 2 Mô tả các biến có trong tập dữ liệu RRTD

Biến đầu vào	Định nghĩa biến
person_age	Tuổi của cá nhân
person_income	Thu nhập hàng năm của người vay
person_home_ownership	Loại hình sở hữu nhà - thuê, thế chấp, thuê mua, sở hữu hoặc khác
person_emp_length	Thời gian làm việc của cá nhân (tính theo năm)
loan_intent	Mục đích của khoản vay
loan_amnt	Số tiền được vay
loan_int_rate	Lãi suất của khoản vay
loan_status	Trạng thái thanh toán khoản vay (0: không vi phạm, 1: vi phạm)
loan_percent_income	Tỷ lệ (%) số tiền vay so với tổng thu nhập
cb_person_default_on_file	Lịch sử các khoản nợ (nếu có) của người vay

cb_person_cred_hist_length	Độ dài lịch sử tín dụng của người vay
----------------------------	---------------------------------------

Việc xem thông kê mô tả của dữ liệu cho biết chi tiết và đặc điểm thống kê của dữ liệu. Được mô tả qua Bảng 3.

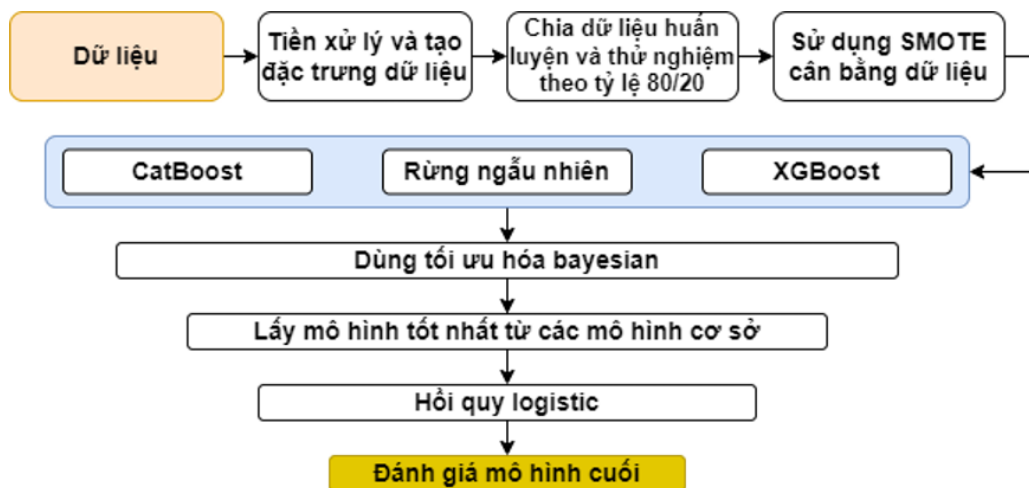
Bảng 3 Thống kê mô tả

Thống kê	person_age	person_income	person_emp_length	loan_amnt	loan_int_rate	loan_status	loan_percent_income	cb_person_cred_hist_length
Số lượng	32581,0	32581,0	31686,0	32581,0	29465,0	32581,0	32581,0	32581,0
Trung bình	27,7346	66745,26	4,793856	9593,371	11,01169	0,211364	0,170283	5,894211
Độ lệch chuẩn	6,340878	62358,45	4,14263	6322,085	3,24205	0,408396	0,106702	4,055001
Nhỏ nhất	20,0	4000,0	0,0	500,0	5,42	0,0	0,0	2,0
25%	23,0	40000,0	2,0	4000,0	7,9	0,0	0,09	3,0
50%	26,0	65000,0	4,0	8000,0	10,9	0,0	0,15	4,0
75%	30,0	90500,0	7,0	12000,0	13,47	0,0	0,23	7,0
Lớn nhất	144,0	600000,0	123,0	35000,0	23,22	1,0	0,83	30,0

Nghiên cứu này tập trung trên một bộ dữ liệu được công bố công khai trên Kaggle nhằm đánh giá và so sánh năng lực của các mô hình học máy trên cùng một nền tảng dữ liệu, giúp đảm bảo tính khách quan và công bằng khi nghiên cứu. Ngoài ra, các nhà nghiên cứu khác có thể dễ dàng truy cập, tái hiện và xác minh kết quả của nghiên cứu này, như rất nhiều các công bố khác đã sử dụng bộ dữ liệu này để tiến hành thử nghiệm các mô hình học máy khác; từ đó giúp chứng minh phương pháp đề xuất của nghiên cứu đạt được kết quả khả quan và có giá trị.

3.2 Phương pháp đề xuất

Quy trình dự đoán RRTD bắt đầu với việc thu thập và tiền xử lý dữ liệu, bao gồm làm sạch dữ liệu, xử lý giá trị thiếu và mã hóa các biến phân loại. Tiếp theo, kỹ thuật SMOTE được sử dụng để cân bằng dữ liệu, giải quyết vấn đề mất cân bằng lớp. Sau đó, ba mô hình cơ sở là CatBoost, rừng ngẫu nhiên và XGBoost được huấn luyện và tối ưu hóa bằng tối ưu hóa Bayesian. Kết quả từ các mô hình cơ sở được kết hợp lại bằng hồi quy logistic để tạo ra mô hình tổng hợp cuối cùng. Cuối cùng, hiệu suất của mô hình tổng hợp được đánh giá.



Hình 1 Sơ đồ phương pháp được sử dụng trong nghiên cứu

Các bước cụ thể triển khai trong nghiên cứu này:

- Bước 1: tiền xử lý và tạo dữ liệu đặc trưng.
- Bước 2: sử dụng SMOTE trên tập dữ liệu huấn luyện nhằm cân bằng số lượng nhãn.
- Bước 3: áp dụng Bayesian Optimization trên 3 mô hình học máy khác nhau gồm CatBoost, Rừng ngẫu nhiên và XGBoost.
- Bước 4: xây dựng mô hình xếp chồng từ 3 mô hình cơ sở ở bước 3.
- Bước 5: đánh giá mô hình.

Các bước triển khai này được giới thiệu ngay sau trong phần 3.3. Bước đánh giá mô hình được thể hiện ở phần 4 khi tiến hành đo đạc và so sánh kết quả với các nghiên cứu khác.

3.3 Các bước tiến hành

3.3.1 Tạo dữ liệu đặc trưng

Tính toán tỷ lệ khoản vay trên thu nhập và tỷ lệ lãi suất khoản vay trên thu nhập từ khoản vay.

Tỷ lệ khoản vay trên thu nhập: đo lường số tiền vay so với thu nhập hàng năm của người vay. Chỉ số này giúp các tổ chức tài chính đánh giá khả năng trả nợ của người vay, từ đó quyết định có nên phê duyệt khoản vay hay không. Tỷ lệ thấp cho thấy người vay có khả năng tài chính tốt hơn để trả nợ [10].

$$\text{Loan_to_income_ratio} = \frac{\text{Loan_amnt}}{\text{Person_income}}$$

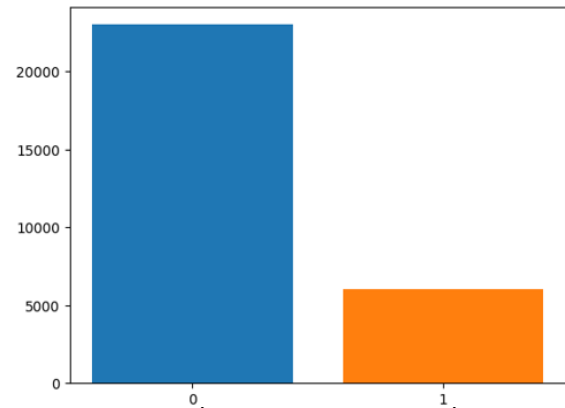
Tỷ lệ lãi suất trên thu nhập: kết hợp lãi suất của khoản vay với tỷ lệ phần trăm khoản vay so với thu nhập. Chỉ số này cung cấp thông tin về chi phí lãi suất mà người vay phải trả tương ứng với thu nhập của họ, giúp phân tích khả năng tài chính và quản lý RRTD hiệu quả hơn. Việc theo dõi cả hai tỷ lệ này giúp các tổ chức tài chính duy trì một danh mục cho vay lành mạnh và giảm thiểu rủi ro [11].

$$\begin{aligned} \text{Interest_income_ratio} \\ &= \text{Loan_int_rate} \\ &\times \text{Loan_person_income} \end{aligned}$$

3.3.2 Sử dụng SMOTE để cân bằng số lượng nhãn

Trong Hình 2, hiện tượng mất cân bằng dữ liệu xuất hiện khi số lượng mẫu của nhãn 0 vượt trội so với nhãn 1. Số lượng nhãn 0 gấp xấp xỉ 4 lần so với nhãn 1, điều này làm cho quá trình học của các mô hình học máy có

thiên hướng chỉ học tập trung nhãn 0. Vì vậy sau khi SMOTE được áp dụng, số lượng nhãn 1 được làm giàu bằng với số lượng nhãn 0 nhằm cân bằng nhãn.



Hình 2 Phân phối của hai nhãn trong biến mục tiêu Loan_status.

3.3.3 Bayesian Optimization

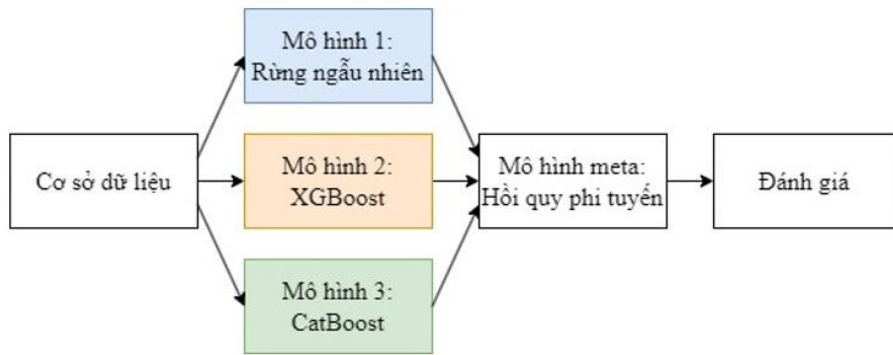
Việc lựa chọn không gian siêu tham số để tiến hành tìm kiếm rất quan trọng, vì vậy nghiên cứu này tập trung vào các tham số chính được sử dụng ở hầu hết các nghiên cứu trước đây là số cây (estimators hoặc iterations) và chiều sâu tối đa của cây (max_depth hoặc depth), tất nhiên không bỏ qua tỉ lệ học (learning_rate) một chỉ số quan trọng trong siêu tham số huấn luyện mô hình. Bảng 4 mô tả không gian siêu tham số tìm kiếm đã áp dụng trên các mô hình lựa chọn là cơ sở.

Bảng 4 Không gian tìm kiếm được chọn để tìm siêu tham số trong các mô hình XGBoost, rừng ngẫu nhiên, và CatBoost đều nhằm mục đích tối ưu hóa hiệu suất của mô hình.

Mô hình	Tên tham số	Khoảng Tìm Kiếm
XGBoost	n_estimators	50-300
	max_depth	3-10
	learning_rate	0,01-0,30
Rừng ngẫu nhiên	n_estimators	50-300
	max_depth	3-20
CatBoost	iterations	50-300
	depth	3-10
	learning_rate	0,01-0,30

3.3.4 Mô hình xếp chồng

Sau khi áp dụng kỹ thuật BO để tìm ra mô hình tốt nhất làm mô hình cơ sở, tiến hành xếp chồng bằng phương pháp hồi quy phi tuyến để tạo mô hình meta hoàn tất kỹ thuật tạo mô hình xếp chồng, theo mô tả ở Hình 3.



Hình 3 Sơ đồ cấu trúc của mô hình xếp chồng

Bằng cách kết hợp các mô hình có khả năng tổng quát hóa cao và giảm quá khớp, mô hình xếp chồng sẽ tạo ra kết quả mạnh mẽ và ổn định hơn. Khi làm mô hình meta, hồi quy phi tuyến sẽ giúp tổng hợp kết quả từ các mô hình cơ sở một cách tuyến tính, mang lại sự chính xác và đơn giản trong việc phân loại, đặc biệt phù hợp khi kết quả từ các mô hình cơ sở đã có độ chính xác cao. Kết quả hiệu suất học của các mô hình cơ sở và mô hình xếp chồng được đánh giá cụ thể ở Bảng 5.

4 Kết quả

Môi trường thực nghiệm được thực hiện trên nền tảng Kaggle, một trong những nền tảng phổ biến nhất cho cộng đồng học máy và khoa học dữ liệu. Trong nghiên cứu này, sử dụng Kaggle Notebooks (trước đây gọi là Kaggle Kernels) để phát triển và chạy các mô hình học máy.

Mô hình xếp chồng đạt được kết quả vượt trội so với các mô hình cơ sở bình thường kết quả này còn thể hiện không chỉ thông qua các chỉ số như độ chính xác còn thể hiện qua chỉ số ROC AUC.

Bảng 5 Kết quả sau khi huấn luyện mô hình

Mô hình	Độ chính xác	Độ chuẩn xác	Độ nhạy	F1	ROC AUC
Rừng ngẫu nhiên	0,9338	0,9633	0,7288	0,8316	0,9459
XGBOOST	0,9347	0,9624	0,7377	0,8352	0,9500
CatBOOST	0,9355	0,9816	0,7268	0,8351	0,9474
Stacking model	0,9503	0,9796	0,9198	0,9487	0,9815

Từ Bảng 5, các mô hình cơ sở đạt độ chính xác nhỏ nhất là rừng ngẫu nhiên là 0,9338 và lớn nhất là 0,9355, với độ chuẩn xác trên 0,96 và độ nhạy ở khoảng 0,72 đến 0,74. Tuy nhiên, mô hình stacking vượt trội với độ chính xác 0,9503 và độ nhạy 0,9198, cao hơn so với bất kỳ mô hình cơ sở nào. Điều này cho thấy mô hình stacking cải thiện rõ rệt khả năng phát hiện các trường hợp dương tính.

Sự cải thiện ở cả độ chuẩn xác và độ nhạy dẫn đến chỉ số F1 của mô hình stacking cũng cao hơn, phản ánh sự cân bằng tốt hơn trong dự đoán. Đặc biệt, chỉ số ROC AUC của mô hình stacking đạt 0,9815, cho thấy khả năng phân biệt rất tốt giữa các lớp và ít nhầm lẫn. Trong bối cảnh đánh giá RRTD, chỉ số ROC AUC cao giúp

các tổ chức tài chính đưa ra quyết định tín dụng chính xác, giảm thiểu rủi ro và tối ưu hóa quy trình quản lý.

5 Kết luận

Nghiên cứu này đã tổng hợp và phân tích hiệu suất của các mô hình học máy trong đánh giá RRTD, đồng thời đưa ra những kết luận quan trọng.

- Mô hình stacking đạt hiệu suất cao nhất với độ chính xác 95,503 % và chỉ số F1 là 0,9487. Độ nhạy của mô hình stacking cũng tăng lên đáng kể, đạt 91,98 %, cao hơn các mô hình cơ sở, cho thấy sự cải thiện toàn diện về các chỉ số đánh giá.
- Chỉ số ROC AUC của mô hình stacking đạt 98,15 %, chứng minh khả năng phân loại tốt và ít bị nhầm lẫn

giữa các nhân. Tuy nhiên, việc áp dụng mô hình stacking cần cân nhắc về độ phức tạp và thời gian tính toán. Mô hình rừng ngẫu nhiên và CatBoost cũng đạt hiệu suất ấn tượng với độ chính xác trên 93,55 %, nhưng có thể gặp hiện tượng quá khớp. Mô hình XGBoost ổn định với các chỉ số về độ chuẩn xác và độ nhạy cao, nhưng cần tinh chỉnh thêm.

- Không chỉ áp dụng trong thực tiễn, nghiên cứu này còn chỉ ra rằng phương pháp tối ưu hóa Bayes (Bayesian Optimization – BO) đóng vai trò quan trọng trong việc tìm ra các base learner tốt nhất, từ đó xây dựng được meta learner có khả năng tổng hợp và tối ưu hóa hiệu quả hơn. BO giúp tự động hóa quá trình điều chỉnh siêu tham số của các mô hình nền tảng (base learner), cải thiện đáng kể hiệu suất của từng mô hình thành phần, từ đó tối ưu hóa toàn bộ mô hình stacking. Điều này chứng tỏ rằng, việc kết hợp BO với các mô hình học máy không chỉ giúp nâng cao khả năng dự đoán mà còn tối ưu hóa thời gian và tài nguyên tính

toán, góp phần xây dựng những mô hình phân loại RRTD chất lượng cao.

- Về mặt thực tiễn, mô hình stacking có thể được áp dụng hiệu quả tại các tổ chức tín dụng nhằm cải thiện độ chính xác trong việc phân loại và đánh giá RRTD. Các chỉ số cao về độ nhạy và ROC AUC của mô hình cho phép các tổ chức đưa ra quyết định tín dụng chính xác hơn, giảm thiểu rủi ro nợ xấu và tối ưu hóa danh mục cho vay. Tuy nhiên, việc triển khai các mô hình phức hợp như stacking đòi hỏi cần có cơ sở hạ tầng tính toán mạnh mẽ và quy trình giám sát chặt chẽ để đảm bảo hiệu quả lâu dài. Các mô hình khác như rừng ngẫu nhiên và CatBoost, với hiệu suất cao nhưng có nguy cơ quá khớp có thể phù hợp với những tập dữ liệu nhỏ hơn hoặc các trường hợp có cấu trúc dữ liệu ít phức tạp hơn. Tóm lại, nghiên cứu này cho thấy tiềm năng của các mô hình học máy trong việc nâng cao hiệu quả đánh giá RRTD, giúp các tổ chức tài chính đưa ra các quyết định tín dụng chính xác và kịp thời hơn, từ đó cải thiện chất lượng dịch vụ và giảm thiểu tổn thất tài chính.

Tài liệu tham khảo

1. Shi, S., Tse, R., Luo, W., D'Addona, S., & Pau, G. (2022). Machine learning-driven credit risk: a systemic review. *Neural Computing and Applications*, 34(17), 14327-14339.
2. Chen, S., Wang, Q., & Liu, S. (2019, June). Credit risk prediction in peer-to-peer lending with ensemble learning framework. In *2019 Chinese Control and Decision Conference (ccdc)* (pp. 4373-4377). IEEE.
3. Li, Y. (2019). Credit risk prediction based on machine learning methods. In *2019 14th International Conference on Computer Science & Education (ICCSE)* (pp. 1011-1013). IEEE.
4. Ben Jabeur, S., Stef, N., & Carmona, P. (2023). Bankruptcy prediction using the XGBoost algorithm and variable importance feature engineering. *Computational Economics*, 61(2), 715-741.
5. Wang, X., Qiao, Y., Cui, Y., Ren, H., Zhao, Y., Linghu, L., ... & Qiu, L. (2023). An explainable artificial intelligence framework for risk prediction of COPD in smokers. *BMC Public Health*, 23(1), 2164.
6. Mienye, I. D., & Sun, Y. (2022). A survey of ensemble learning: Concepts, algorithms, applications, and prospects. *IEEE Access*, 10, 99129-99149.
7. Dey, R., & Mathur, R. (2023). Ensemble learning method using stacking with base learner, a comparison. In *International Conference on Data Analytics and Insights* (pp. 159-169). Singapore: Springer Nature Singapore.
8. Dahouda, M. K., & Joe, I. (2021). A deep-learned embedding technique for categorical features encoding. *IEEE Access*, 9, 114381-114391.
9. Shrestha, N. (2020). Detecting multicollinearity in regression analysis. *American Journal of Applied Mathematics and Statistics*, 8(2), 39-42.



10. Avgouleas, E. (2015). Bank leverage ratios and financial stability: A micro-and macroprudential perspective. *Levy Economics Institute of Bard College Working Paper*, (849).
11. Bierut, B. K., Chmielewski, T., Glogowski, A., Stopczyński, A., & Zajęczkowski, S. (2015). Implementing loan-to-value and debt-to-income ratios: learning from country experiences. The case of Poland. *The Case of Poland (October 8, 2015). National Bank of Poland Working Paper*, (212).
12. Chawla, N. V., Bowyer, K. W., Hall, L. O., & Kegelmeyer, W. P. (2002). SMOTE: synthetic minority over-sampling technique. *Journal of Artificial Intelligence Research*, 16, 321-357.
13. Victoria, A. H., & Maragatham, G. (2021). Automatic tuning of hyperparameters using Bayesian optimization. *Evolving Systems*, 12(1), 217-223.
14. Yu, L., Wang, S., & Lai, K. K. (2008). Credit risk assessment with a multistage neural network ensemble learning approach. *Expert Systems With Applications*, 34(2), 1434-1444.
15. Chen, T., & Guestrin, C. (2016). Xgboost: A scalable tree boosting system. In *Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining* (pp. 785-794).
16. Louppe, G. (2014). Understanding random forests: From theory to practice. *arXiv preprint arXiv:1407.7502*.
17. Prokhorenkova, L., Gusev, G., Vorobev, A., Dorogush, A. V., & Gulin, A. (2018). CatBoost: unbiased boosting with categorical features. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 31.
18. Khashman, A. (2010). Neural networks for credit risk evaluation: Investigation of different neural models and learning schemes. *Expert Systems with Applications*, 37(9), 6233-6239.
19. Sun, H., & Guo, M. (2015). Credit risk assessment model of small and medium-sized enterprise based on logistic regression. In *2015 IEEE International Conference on Industrial Engineering and Engineering Management (IEEM)* (pp. 1714-1717). IEEE.

Application of Stacking Model Combined with SMOTE and Bayesian Optimization for Credit Risk Assessment

Duong Hon Minh

Pharmacy Department, Nguyen Tat Thanh University

dhminh@ntt.edu.vn

Abstract Credit risk prediction is a critical task for financial institutions to minimize the risk of default and optimize lending decisions. In the context of rapid advancements in machine learning techniques, many classification methods have been developed to improve credit risk prediction capabilities. This study applies a stacking model to assess credit risk, combining predictions from various machine learning models, including XGBoost, Random Forest, and CatBoost. A meta-model, logistic regression, is used to optimize predictions from base models to generate the final prediction. Data is processed using the SMOTE technique for balancing, and the hyperparameters of the base models are optimized through Bayesian optimization. The results show that the stacking model achieves an accuracy of 95.503 % and an ROC-AUC score of 98.15 %, demonstrating the high reliability of the predictions. These results highlight the applicability of machine learning models in credit risk assessment, supporting financial institutions in making individual credit decisions.

Keywords Machine learning, ensemble learning, Bayesian optimization, SMOTE, credit risk prediction.



Nghiên cứu sự biến đổi thành phần hóa học của bột hạt mít (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) lên men trong các quá trình sản xuất ở quy mô pilot

Văn Chí Khang^{1*}, Lê Thị Tuyết Lan², Nguyễn Trịnh Thị Như Hằng¹, Nguyễn Phú Thương Nhân²

¹Viện Ứng dụng Công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

vckhang@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá sự biến đổi thành phần hóa học (polyphenol, flavonoid, vitamin C, hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH và ABTS) qua các quá trình lên men, sấy, rang và xay. Mẫu bột thành phẩm có hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH, ABTS, hàm lượng flavonoid và vitamin C lần lượt là 116,66 mg GAE/100 g, 47,54 mg AAE/100 g, 55,99 mg AAE/100 g, 5,89 mg QE/100 g, 9,78 mg/100 g. Qua các giai đoạn sản xuất, các thành phần hóa học được đánh giá mối quan hệ với nhau.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 26/08/2024
Được duyệt 03/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Artocarpus heterophyllus Lam, bột hạt mít, pilot, lên men, thành phần hóa học

1 Giới thiệu

Cây mít (*Artocarpus heterophyllus*) là cây ăn quả phổ biến ở tất cả các vùng sinh thái của Việt Nam, chủ yếu ở khu vực phía Nam. Năm 2018, cả nước có 26 174 ha mít, sản lượng 307 534 tấn. Trong đó vùng Đồng bằng sông Cửu Long có diện tích lớn nhất với 10 105 ha; diện tích thu hoạch 6 396 ha, chiếm 38,6 % tổng diện tích và 37,1 % sản lượng cả nước năm 2018 [1]. Thời gian gần đây, diện tích trồng mít ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long tăng đến vài chục nghìn ha, nhiều nhất là các tỉnh: Tiền Giang, Vĩnh Long, Long An, Hậu Giang, Bến Tre,... Riêng khu vực miền Đông Nam Bộ, nhất là Bình Phước, Bình Dương, diện tích trồng mít cũng tăng đáng kể. Tổng diện tích trồng mới cả nước trong 2 năm 2017-2018 là 5 790 ha. Nếu năm 2017 diện tích trồng mới khoảng 1 654 ha thì sang năm 2018 là 4 134 ha, gấp 2,5 lần năm trước. Theo thống kê đến năm 2018, Tiền Giang là tỉnh trồng mít nhiều nhất vùng

Đồng bằng sông Cửu Long, tập trung nhiều ở huyện Cái Bè, Cai Lậy, Châu Thành,...

Các bộ phận của cây mít và trái mít hầu như đều có giá trị sử dụng. Hạt mít (HM) chiếm khoảng 10 % đến 15 % tổng khối lượng của trái mít, ngoài ra trong HM chứa một hàm lượng khá lớn tinh bột và protein, chất xơ [2]. Tuy nhiên, HM lại là bộ phận dễ bị bỏ đi nhất, dù có giá trị dinh dưỡng cao nhưng bị cho là phế phẩm nông nghiệp và thường làm cây giống. Nhưng nhu cầu cây giống đang có dấu hiệu suy giảm và các công trình nghiên cứu dành cho HM chưa được thực hiện nhiều tại Việt Nam [3].

Việc nghiên cứu về sự biến đổi thành phần hóa học của bột hạt mít (BHM) lên men ở quy mô pilot, là một trong các chuỗi nghiên cứu giúp HM được ứng dụng rộng rãi hơn, giảm lượng HM bị bỏ đi, giảm ô nhiễm môi trường, nâng cao giá trị thương phẩm của cây mít, tạo thêm việc làm nếu quy trình sản xuất được áp dụng vào quy mô công nghiệp.



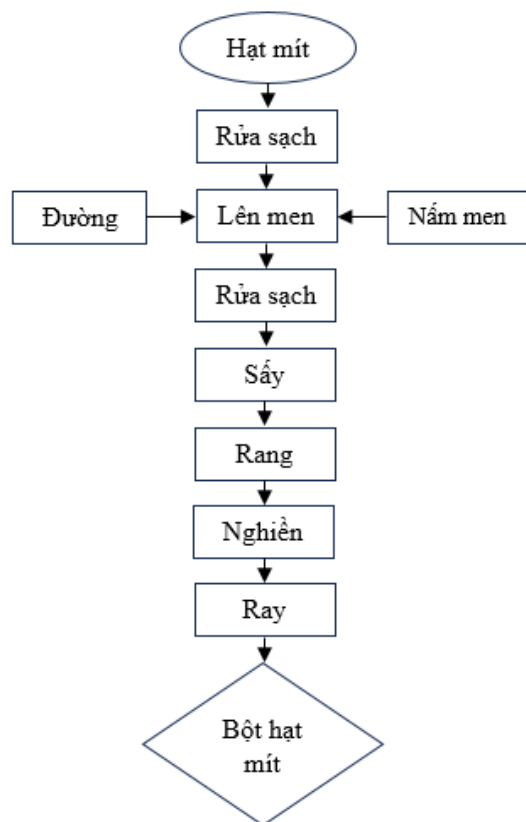
2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu sản xuất BHM lên men được mua tại chợ Thủ Đức, đường Kha Vạn Cân, phường Linh Tây, thành phố Thủ Đức, Thành phố Hồ Chí Minh. HM mua về được bảo quản trong túi PA ở -60°C cho đến khi thực hiện phân tích.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp sản xuất bột HM lên men



Hình 1 Sơ đồ quy trình sản xuất BHM lên men

HM tươi sau khi được vận chuyển từ điểm thu mua về được sơ chế bằng cách lột vỏ lụa, rửa sạch bằng nước để ráo trong rổ nhựa. Sau khi để ráo, HM được lau khô bằng khăn sạch. Lấy HM tươi cho vào bình thủy tinh đã lót sẵn lá chuối ở đáy. Bỏ sung 15 % lượng đường và 0,5 % nồng độ nấm men xen kẽ với HM để các nguyên liệu được hòa trộn đồng đều hơn. Lót thêm một lớp lá chuối và đậy kín bình để quá trình lên men kỵ khí diễn ra. Sau 3 ngày, mở nắp bình và lấy lớp lá chuối ở trên ra ngoài để quá trình lên men hiếu khí được diễn ra (trong thời gian lên men hiếu khí dùng màng che miệng bình để tránh côn trùng vào bên trong). Sau 5

ngày lên men hiếu khí, quá trình lên men kết thúc. HM đã lên men được đem ra rửa sạch để ráo nước rồi đem sấy đối lưu ở 60°C trong 24 giờ. Sau khi sấy, HM được loại bỏ phần vỏ trắng rồi tiếp tục sấy đối lưu ở 60°C trong 24 giờ. Kết thúc quá trình sấy, đem HM đi rang ở thời gian 45 phút và nhiệt độ 170°C . HM sau khi rang được đem xay bằng máy xay hạt khô trong 1 phút thu được BHM lên men. Cho sản phẩm qua rây bằng dụng cụ inox có đường kính 30 cm, kích thước lỗ rây là 0,05 mm để thu được bột mịn, phần bột mịn sẽ được đóng gói trong túi zip kín.

2.2.2 Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của sự biến đổi thành phần hóa học của HM trong quá trình sản xuất theo quy mô 1 kg và 30 kg

Mục đích của nghiên cứu này là so sánh sự biến đổi thành phần hóa học của HM sau quá trình lên men ở quy mô 1 kg và 30 kg. Quy trình thực hiện bao gồm lên men, sấy, rang, xay HM theo phương pháp đã trình bày tại Mục 2.2.1, với mẫu đối chứng là HM không lên men và thí nghiệm lặp lại 3 lần. Các yếu tố cố định bao gồm nồng độ đường (15 %), nồng độ nấm men (0,5 %), và thời gian lên men (8 ngày), trong khi yếu tố thay đổi là quy mô (1 kg và 30 kg). Các chỉ tiêu theo dõi gồm độ axit tổng (TA %), pH, hàm lượng polyphenol (mg GAE/g), hoạt tính kháng oxy hóa DPPH và ABTS (mg AAE/100 g DM), flavonoid (mg QE/100 g DM), và vitamin C (mg/100 g).

2.2.3 Phân tích mối liên hệ chất lượng BHM theo từng quá trình trong quy trình chế biến

Mối liên hệ của thành phần hóa học của BHM trong từng giai đoạn của quy trình chế biến (lên men, sấy, rang, xay).

2.3 Phương pháp phân tích

2.3.1 Độ ẩm

Cho $(0,5 \pm 0,05)$ g mẫu bột vào đĩa cân của máy sấy ẩm (hiệu Ohaus) ở 40°C . Đóng nắp cân lại, ghi nhận kết quả sau thời gian sấy ẩm.

2.3.2 pH

Cân 5 g mẫu bột, thêm vào 50 mL nước khuấy đều sau đó đưa đầu đo của máy đo pH vào dung dịch tiến hành đo pH (hiệu Hanna). Ghi lại số liệu hiển thị trên màn hình máy đo pH sau khi đo xong.

2.3.3 TA: hàm lượng acid tổng (TA) được xác định dựa trên phương pháp dùng dung dịch NaOH 0,1 N để trung

hòa hết acid hữu cơ có trong mẫu thử bằng phương pháp chuẩn độ hóa học (burette). Chất chỉ thị thường dùng là phenolphthalein theo TCVN 4589-88.

2.3.4 Hoạt độ nước

Hoạt độ nước là chỉ tiêu quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng bột trong quá trình bảo quản. Trải đều lượng mẫu lên bề mặt cốc chứa mẫu. Đặt cốc chứa mẫu vào máy đo hoạt độ nước Novasine. Sau một khoảng thời gian, đọc và ghi nhận kết quả hiển thị trên màn hình của máy.

2.3.5 Màu sắc bột

Màu sắc của sản phẩm quyết định đến chất lượng và cảm quan của sản phẩm. Giá trị của màu sắc được đo thông qua máy đo màu quét Chroma (kiểu NR60CP). Kết quả được hiển thị dưới dạng số thông qua L^* (độ sáng dao động từ 0 đến 100), giá trị a^* (từ xanh lục đến đỏ) và b^* (từ xanh dương sang vàng), C (sắc độ), và h (màu sắc).

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_2 - L^*_1)^2 + (a^*_2 - a^*_1)^2 + (b^*_2 - b^*_1)^2}$$

2.3.6 Phương pháp hàm lượng polyphenol

Tiến hành pha loãng dung dịch với nồng độ phù hợp bằng ethanol (dịch thu được ở phần chiết mẫu). Sau đó, hút 0,1 mL dung dịch mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm. Thêm vào 0,5 mL dung dịch Folin-Ciocalteu 10 % và đồng nhất bằng máy Vortex, để dung dịch phản ứng trong 5 phút. Tiếp tục thêm 0,4 mL dung dịch Na_2CO_3 7,5 % và lắc đều. Để dung dịch ở nhiệt độ phòng trong bóng tối 1 giờ. Sau đó, đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 765 nm trên máy quang phổ UV-Vis. Gallic acid được dùng làm chất chuẩn. Hàm lượng polyphenol được biểu diễn theo miligam đương lượng acid gallic trong 1 g dịch chiết (mg GAE/g dịch chiết).

$$A = \text{TPC (mg GAE/g DM)} = \left(\frac{Cx \cdot h \cdot V}{1000} \right) / \left(\frac{m \cdot (100 - a)}{100} \right)$$

Trong đó:

C_x : nồng độ TPC trong mẫu đo xác định từ đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)

h : hệ số pha loãng giữa tỉ lệ hút từ dịch mẫu gốc và dung môi (mL)

V : thể tích dịch mẫu gốc (mL)

a : độ ẩm (%)

m : khối lượng mẫu (g)

2.3.7 Phương pháp phân tích hàm lượng flavonoid

Tiến hành pha loãng dung dịch với nồng độ phù hợp bằng ethanol. Sau đó, hút 0,5 mL dung dịch mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm. Thêm vào ống nghiệm đã chứa mẫu trên 4,3 mL ethanol, 0,1 mL AlCl_3 10 % và 0,1 mL NaOH 1 M. Đợi 30 phút, đo ở bước sóng 510 nm. Hàm lượng flavonoid được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn quercetin.

2.3.8 Phương pháp phân tích hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH·

Cách tiến hành: phương pháp khử gốc tự do DPPH· (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) pha loãng mẫu đến khoảng nồng độ phù hợp, hút 0,5 mL mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm. Mẫu đối chứng thay ethanol (99,5 %). Sau đó, hút thêm vào ống nghiệm 1,5 mL dung dịch DPPH· ($\text{OD}_{517 \text{ nm}} = 1,1 \pm 0,02$) vào ống nghiệm và để trong bóng tối trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang học ở 517 nm trên máy quang phổ UV-Vis. Vitamin C (acid ascorbic) được sử dụng làm chất chuẩn để so sánh. Đối với đo điểm: tiến hành pha loãng nồng độ mẫu bằng ethanol. Hút 0,5 mL dịch mẫu đã pha loãng vào các ống nghiệm nhỏ đã chuẩn bị trước. Sau đó, hút 1,5 mL dung dịch DPPH· ($1,1 \pm 0,02$) đã hiệu chỉnh, ủ tối 30 phút rồi tiến hành đo quang UV-Vis ở bước sóng 517 nm với mẫu blank là ethanol và ghi nhận kết quả.

2.3.9 Phương pháp phân tích hoạt tính kháng oxy hóa bằng ABTS⁺

Cách tiến hành: dung dịch gốc tự do ABTS⁺ được chuẩn bị bằng cách cho 10 mL dung dịch ABTS⁺ nồng độ 7,4 mM vào 10 mL dung dịch $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ nồng độ 2,6 mM rồi ủ trong bóng tối trong 24 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol rồi điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm đến $1,1 \pm 0,02$. Pha loãng mẫu đến khoảng nồng độ phù hợp, hút 0,5 mL mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm. Mẫu đối chứng thay ethanol (99,5 %). Sau đó, hút thêm vào ống nghiệm 1,5 mL dung dịch ABTS⁺ ($\text{OD}_{517 \text{ nm}} = 1,1 \pm 0,02$) vào ống nghiệm và để trong bóng tối trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang học ở 734 nm trên máy quang phổ UV-Vis. Vitamin C (acid ascorbic) được sử dụng làm chất chuẩn để so sánh. Tiến hành pha loãng nồng độ mẫu bằng ethanol. Hút 0,5 mL dịch mẫu đã pha loãng vào các ống nghiệm nhỏ đã chuẩn bị trước. Sau đó, hút 1,5 mL dung dịch ABTS⁺

đã hiệu chỉnh, ủ tối 30 phút rồi tiến hành đo quang UV-Vis ở bước sóng 734 nm với mẫu blank là nước cất và ghi nhận kết quả.

2.3.10 Phương pháp phân tích hình ảnh cấu trúc sản phẩm (SEM)

Mẫu được phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét (S4800, Hitachi, Japan) điện áp gia tốc 10 kV ở độ phóng đại 500× và 2000×. Mẫu 30 kg được đem đi phân tích SEM tại R&D Center, Saigon High Tech Park ở Quận 9, TP.HCM.

2.3.11 Phương pháp xử lý số liệu

2.3.11 Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần, được tính toán và xử lý bằng phần mềm Statgraphics. Phân tích thống kê ANOVA và trắc nghiệm LSD được sử dụng để so sánh ảnh hưởng của các yếu tố. Độ tin cậy 95 % được áp dụng cho tất cả các phép thống kê.

3 Kết quả nghiên cứu

3.1 Sự biến đổi thành phần hóa học của HM trong quá trình sản xuất theo quy mô

3.1.1 Quá trình lên men

Bảng 1 cho thấy thể hiện giá trị pH và TA sau quá trình lên men ở hai quy mô 1 kg và 30 kg. Giá trị pH của HM có xu hướng giảm, còn TA có xu hướng tăng lên sau quá trình lên men. Giá trị pH ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng và lên men của nấm men. Hầu hết các chủng *S. cerevisiae* phát triển ở giá trị pH từ 2,50 đến 8,50, nhưng chúng là sinh vật ưa axit và phát triển tốt hơn trong điều kiện axit [4]. Còn TA là một yếu tố dự báo tốt hơn độ pH về mức độ ảnh hưởng của axit hữu cơ trong thực phẩm đến hương vị. Số liệu phân tích ở Bảng 1 cho thấy giá trị pH tỷ lệ nghịch với TA. Giá trị pH sau quá trình lên men dao động từ 4,29 đến 4,34 thấp hơn so với mẫu đối chứng, giá trị TA dao động từ 2,07 % đến 2,13 % cao hơn với mẫu đối chứng. Trong quá trình lên men, ngoài sinh ra ethanol còn tạo ra các axit hữu cơ (như acetic, axit và axit succinic), những axit này có thể là nguyên nhân dẫn tới việc giảm pH [5]. Sự khác biệt này có thể là do với số lượng mẫu ủ nhiều quá trình chuyển hóa đường glucoza thành rượu etylic và CO₂ cần nhiều thời gian hơn. Bên cạnh đó, lượng nhiệt sinh ra trong quá trình lên men cũng ảnh hưởng đến pH của HM.

Bảng 2 mô tả thành phần hóa học của HM sau quá trình lên men. Nhìn chung, thành phần hóa học của HM có xu hướng giảm sau quá trình lên men. Hàm lượng polyphenol của HM sau lên men dao động từ (274,26-286,70) mg GAE/100 g DM thấp hơn mẫu đối chứng (325,20 mg GAE/100 g DM). Xu hướng trên tương đồng với nghiên cứu của Camu và cộng sự (2008) về hạt cacao: trong quá trình lên men, hàm lượng polyphenol của hạt cacao giảm từ 16,11 % xuống 6,57 % [6]. Kết quả phân tích ở Bảng 2 cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH của HM sau lên men dao động (100,64-102,56) mg AAE/100 g DM và hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp ABTS⁺ là khoảng (118,87-124,20) mg AAE/100 g DM. Kết quả phân tích hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH thấp hơn phương pháp ABTS. Điều này là do ABTS⁺ được phát hiện ở bước sóng 734 nm cách xa vùng khả kiến, trong khi DPPH[•] được phát hiện ở bước sóng 517 nm có thể bị suy giảm do khả năng gây nhiễu. Một ưu điểm khác của phương pháp ABTS⁺ là các chất kháng oxy hóa ở các pha nước và pha dầu đều có thể bắt được trong khi chỉ có các chất kháng oxy hóa ưa dầu có thể bắt gốc DPPH ở môi trường hữu cơ. Hàm lượng vitamin C sau lên men của HM dao động từ (20,41-22,79) mg/100 g. Sự thất thoát axit ascorbic có thể là do sự gia tăng hoạt động của enzyme ascorbate oxidase có thể được tạo ra bởi vi sinh vật lên men vốn phụ thuộc nhiều vào độ pH của môi trường lên men. Kết quả phân tích trên tương tự với nghiên cứu của Adetuyi và Ibrahim (2014), khi thời gian lên men tăng lên, hàm lượng axit ascorbic trong hạt đậu bắp giảm từ 650 mg AAE/100 g axit ascorbic xuống 375 mg AAE/100 g axit ascorbic [7]. Sau lên men hàm lượng flavonoid trong khoảng (16,64-17,99) mg QE/100 g DM.

Bảng 1 Giá trị pH và TA của HM qua quá trình lên men

	Mẫu đối chứng	1 kg	30 kg
TA(%)	0,39 ^a ± 0,01	2,13 ^c ± 0,01	2,07 ^b ± 0,03
pH	6,02 ^c ± 0,01	4,29 ^a ± 0,01	4,34 ^b ± 0,01

Các giá trị được biểu thị dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ số a, b, c trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 2 Thành phần hóa học của HM qua quá trình lên men

Quy mô	Mẫu đối chứng	1 kg	30 kg
Hàm lượng polyphenol (mg GAE/100g vck)	325,20 ^c ± 2,92	286,70 ^b ± 0,76	274,26 ^a ± 4,47
Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH (mg AAE/100g vck)	121,71 ^b ± 1,10	102,56 ^a ± 2,30	100,64 ^a ± 3,98
Hoạt tính kháng oxy hóa ABTS (mg AAE/100g vck)	150,88 ^c ± 4,66	124,20 ^b ± 4,30	118,87 ^a ± 1,49
Flavonoid (mg QE/100g vck)	41,35 ^c ± 0,29	17,99 ^b ± 0,25	16,64 ^a ± 0,33
Vitamin C (mg/100g)	25,17 ^a ± 2,10	22,79 ^a ± 1,73	20,41 ^a ± 3,33

Các giá trị được biểu thị dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ số a, b, c trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.2 Quá trình sấy

Cơ chế sấy đối lưu là tạo được sự chênh lệch độ ẩm giữa bề mặt nguyên liệu và tác nhân sấy mà các phân tử nước trên bề mặt nguyên liệu [8]. Sự biến đổi thành phần hóa học của HM lên men sau quá trình sấy được mô tả trong Bảng 3. Hàm lượng polyphenol của HM sau sấy dao động từ 99,04 mg GAE/100 g DM đến 108,89 mg GAE/100 g DM. Hàm lượng flavonoid của HM sau sấy nằm khoảng (4,58-4,74) mg QE/100 g DM. Nhiệt độ cao trong quá trình sấy dẫn đến quá trình oxy hóa hợp chất mang hoạt tính sinh học gây ra sự thất thoát về tổng số phenol, tổng số flavonoid của hạt sấy khô [9]. Sau quá trình sấy, hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH của HM

đã lên men khoảng (40,19-42,56) mg AAE/100 g DM thấp hơn mẫu đối chứng là 102,56 mg AAE/100 g DM. Tương tự hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH, ABTS cao nhất (60,48 mg AAE/100 g DM) ở mẫu đối chứng và kháng oxy của HM lên men dao động (47,19-48,52) mg AAE/100 g DM. Sự giảm hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH, ABTS có liên quan đến hàm lượng polyphenol. Sau sấy, hàm lượng vitamin C của HM dao động từ (18,84-19,39) mg/100 g. Vitamin C không ổn định và dễ bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ cao và oxy. Hàm lượng vitamin C của HM sau sấy thấp hơn kết quả của Zuwariah và cộng sự (2018) về hàm lượng vitamin C trong HM sau sấy là 31,98 g/100 g [10].

Bảng 3 Thành phần hóa học của HM qua quá trình sấy

Quy mô	Mẫu đối chứng	1 kg	30 kg
Hàm lượng polyphenol (mg GAE/100 g vck)	286,70 ^c ± 0,76	108,89 ^b ± 1,86	99,04 ^a ± 2,13
Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH (mg AAE/100 g vck)	102,56 ^b ± 2,30	42,56 ^a ± 1,47	40,19 ^a ± 3,32
Hoạt tính kháng oxy hóa ABTS (mg AAE/100 g vck)	124,20 ^c ± 4,30	48,52 ^b ± 1,43	47,19 ^a ± 1,32
Flavonoid (mg QE/100 g vck)	17,99 ^c ± 0,25	4,74 ^b ± 0,35	4,58 ^a ± 0,08
Vitamin C (mg/100 g)	22,79 ^b ± 1,73	19,39 ^a ± 3,00	18,84 ^a ± 2,51

Các giá trị được biểu thị dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ số a, b, c trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.1.3 Quá trình rang

Quá trình rang có sự tiếp xúc bề mặt với nhiệt trực tiếp từ ngọn lửa hoặc tấm nóng. Ngoài các phản ứng như phản ứng oxy hóa, thủy phân như ở quá trình sấy, ở quá trình rang còn có thể xảy ra các phản ứng như maillard, caramel hóa đường, phân hủy protein. Bảng 4 cho thấy thành phần hóa học của HM qua quá trình rang. Xu hướng chung của các thành phần hóa học của HM là tăng sau quá trình rang, ngoại trừ hàm lượng vitamin C có xu hướng giảm nhẹ. Hàm lượng vitamin C của HM sau quá trình rang nằm trong khoảng 10,20

mg/100 g đến 15,99 mg/100 g. Vitamin C có thể bị oxy hóa, phân hủy khi rang ở nhiệt độ cao.

Sau quá trình rang hàm lượng polyphenol của hạt lên men dao động (120,75-123,85) mg GAE/100 g DM thấp hơn so với mẫu đối chứng 108,89 mg GAE/100 g DM. Việc tăng polyphenol có thể là do khi xử lý nhiệt các hợp chất phenolic sẽ bị phá vỡ làm tăng các axit phenolic tự do vì nhiệt độ cao. Đồng thời, thuốc thử Folin Ciocalteu không chỉ dùng để xác định hàm lượng của các hợp chất phenolic mà còn có thể phản ứng với một số sản phẩm (chất khử) của phản ứng Maillard tạo

ra từ quá trình rang làm gia tăng hàm lượng polyphenol thu được [11]. Hàm lượng flavonoid ở quá trình rang có giá trị bình là 6,62 mg QE/100 g DM cao hơn so với mẫu đối chứng 4,74 mg QE/100 g DM. Xu hướng này khá tương đồng với nghiên cứu của Park và Lee (2021) về việc hàm lượng flavonoid của trái omija tăng từ 0,227 mg QE/g lên 4,714 mg QE/g khi rang ở 180 °C [12]. Hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH của HM có giá trị dao động từ (49,61-61,17) mg AAE/100 g DM. Hoạt tính kháng oxy hóa bằng ABTS trong khoảng 57,58 mg AAE/100 g DM đến 67,52 mg AAE/100 g DM. Việc tăng hoạt tính kháng oxy hóa ở quá trình rang tỷ lệ thuận với xu hướng của polyphenol. Thiết bị rang

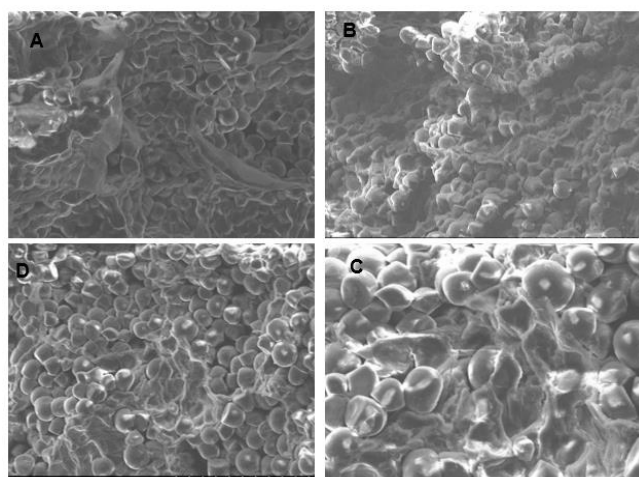
khác nhau có thể là nguyên nhân gây ra sự khác biệt ở hai quy mô.

Hình 2 mô tả cấu trúc vi mô của HM lên men ở quy mô 1 kg và 30 kg được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét. Nhìn chung, các hạt tinh bột có dạng hình cầu và dạng hình chuông chiếm ưu thế, Hình 2A. Các hạt tinh bột được bao phủ một mạng lưới protein và xung quanh là thành tế bào. Ở Hình 2B, các hạt tinh bột có hiện tượng co lại, điều này là do sự mất nước. Hiện tượng này xảy ra tương tự khi nâng quy mô 30 kg (Hình 2C và Hình 2D). Điều này chứng tỏ việc nâng quy mô lên không gây ảnh hưởng đến cấu trúc vi mô của BHM.

Bảng 4 Thành phần hóa học của HM qua quá trình rang

Quy mô	Mẫu đối chứng	1 kg	30 kg
Hàm lượng polyphenol (mg GAE/100 g vck)	108,89 ^c ± 1,86	123,85 ^b ± 6,27	120,75 ^a ± 8,20
Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH (mg AAE/100 g vck)	42,56 ^b ± 1,47	54,09 ^a ± 2,69	49,61 ^a ± 0,65
Hoạt tính kháng oxy hóa ABTS (mg AAE /100 g vck)	48,52 ^b ± 1,43	59,40 ^a ± 2,59	57,58 ^a ± 1,65
Flavonoid (mg QE/100 g vck)	4,74 ^b ± 0,35	6,68 ^a ± 0,15	6,56 ^a ± 0,20
Vitamin C (mg /100 g)	19,39 ^b ± 3,00	11,22 ^a ± 0,83	10,20 ^a ± 4,42

Các giá trị được biểu thị dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ số a, b, c trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).



Hình 2 Hình ảnh cấu trúc vi mô (SEM) của HM: A: mẫu đối chứng ở độ phóng đại 1000×, B: HM lên men quy mô 1 kg ở độ phóng đại 1000×, C: HM lên men quy mô 30 kg ở độ phóng đại 1000×, D: HM lên men quy mô 30 kg ở độ phóng đại 2000×.

3.1.4 Quá trình xay

Bảng 5 thể hiện thành phần hóa học của HM sau quá trình xay. Nhìn chung, các thành phần hóa học của

HM đều giảm nhẹ sau quá trình xay. Hàm lượng polyphenol dao động trong khoảng (99,04-129,99) mg GAE/100 g vck. Hoạt tính kháng oxy hóa bằng DPPH có giá trị cao nhất (60,84 mg AAE/100 g vck) ở mẫu đối chứng và đạt giá trị thấp nhất (47,54 mg AAE/100 g vck). Hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp ABTS của bột HM nằm trong khoảng (55,99-66,34) mg AAE/100 g vck. Hàm lượng vitamin C dao động trong khoảng (9,79-15,15) mg/100 g. Hàm lượng flavonoid của HM lên men dao động trong khoảng (5,89-6,03) mg QE/100 g vck thấp hơn với mẫu đối chứng là 6,68 mg QE/100 g vck. Trong quá trình xay sẽ sinh ra một lượng nhiệt, khi xay số lượng lớn mẫu lượng nhiệt sinh ra lớn làm giảm thành phần hóa học của HM [13]. Kết quả trên thấp hơn nghiên cứu của Kamma về hàm lượng polyphenol và flavonoid của bột HM lần lượt là 704,30 mg GAE/100 g và 26,12 mg CE/100 g [14]. Nhìn chung, khi nâng quy mô lên các thành phần hóa học đều giảm qua các quá trình sản xuất, trừ giai đoạn rang. Sự thất thoát của các thành phần hóa học cao nhất ở quá trình sấy (giảm từ

1,17 đến 3,92 lần so với hạt chưa sấy) và thấp nhất ở quá trình xay (giảm từ 1,00 đến 1,15 lần so với hạt chưa xay). Điều này chứng minh các thông số được

lựa chọn phù hợp để nâng lên quy mô lớn hơn. Vì vậy, sản phẩm bột ở quy mô 30 kg được lựa chọn để đánh giá chất lượng ở các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 5 Thành phần hóa học của HM qua quá trình xay

Quy mô	Mẫu đối chứng	1 kg	30 kg
Hàm lượng polyphenol (mg GAE/100 g vck)	123,85 ^c ± 6,27	122,75 ^b ± 1,87	116,66 ^a ± 2,12
Hoạt tính kháng oxy hóa DPPH (mg AAE/100 g vck)	54,09 ^c ± 2,69	53,7 ^b ± 0,77	47,54 ^a ± 3,80
Hoạt tính kháng oxy hóa ABTS (mg AAE/100 g vck)	59,40 ^c ± 2,59	58,25 ^b ± 1,90	55,99 ^a ± 1,14
Flavonoid (mg QE/100 g vck)	6,68 ^a ± 0,14	6,63 ^{ab} ± 0,02	5,89 ^a ± 0,37
Vitamin C (mg/100 g)	11,22 ^a ± 0,83	11,05 ^a ± 0,24	9,78 ^a ± 0,43

Các giá trị được biểu thị dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ số a, b, c trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2 Đánh giá mối liên hệ chất lượng bột HM theo từng quá trình sản xuất

Bảng 6 thể hiện đặc điểm ngoại quan và chất lượng của HM qua từng giai đoạn sản xuất bột HM lên men. Hiệu suất thu hồi giảm từ 100 % xuống 32,65 % tương ứng với giai đoạn nguyên liệu và xay. Hoạt độ nước của HM có xu hướng giảm từ nguyên liệu đến giai đoạn xay. Hoạt độ nước giảm từ 0,907 ở nguyên liệu xuống 0,355 ở quá trình xay. Giá trị hoạt độ nước gần bằng 1 dễ dàng cho sự phát triển của vi sinh vật và các phản ứng sinh hóa gây hư hỏng. Hoạt độ nước của bột thấp hơn so với các nghiên cứu về bột HM của Leite là $a_w = 0,417$ [15]. Độ ẩm của HM cùng xu hướng với hoạt độ nước. Độ ẩm của HM giảm từ 64,3 % xuống 3,82 %. Điều này có

thể giải thích là do quá trình khử nước xảy ra trong quá trình sấy và rang. Nhìn chung, giá trị L^* giảm từ nguyên liệu đến giai đoạn rang. Giá trị L^* giảm từ 48,58 xuống 42,71. Xu hướng trên tương đồng với nghiên cứu của Pramudita về giá trị L^* của hạt cafe cũng giảm sau quá trình rang [16]. Giá trị b^* trong quá trình lên men tăng từ 14,51 đến 14,63. Giá trị a^* giảm có thể do sự thoái hóa polyphenol. Giá trị b^* , a^* tăng ở giai đoạn rang. Điều này có thể là do sự hình thành các chất dễ bay hơi và sản phẩm có màu trong quá trình rang. Việc giá trị L^* tăng mạnh ở giai đoạn xay là do phần nội nhũ (Endosperm) có màu sáng hơn nên làm màu sắc tổng thể của bột sáng hơn.

Bảng 6 Đặc điểm ngoại quan, chất lượng của HM qua từng giai đoạn sản xuất

Giai đoạn		Nguyên liệu	Lên men	Sấy	Rang	Xay
Hình ảnh						
Hiệu suất thu hồi (%)		100	68,34 ± 0,05	37,50 ± 0,03	32,86 ± 0,01	32,65 ± 0,01
Độ ẩm (%)		63,40 ± 0,19	55,40 ± 0,80	7,50 ± 0,83	3,85 ± 0,13	3,82 ± 0,11
Hoạt độ nước		0,907 ± 0,01	0,861 ± 0,01	0,471 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,36 ± 0,00
Màu sắc	L*	48,58 ± 1,61	49,95 ± 1,95	43,22 ± 1,97	42,71 ± 0,30	78,85 ± 0,39
	a*	13,54 ± 1,20	11,64 ± 1,11	7,99 ± 0,49	8,47 ± 0,31	5,17 ± 0,14

	b*	14,51 ± 1,00	14,63 ± 0,33	4,77 ± 0,33	7,23 ± 0,19	19,25 ± 0,24
	C*	19,85 ± 1,50	18,71 ± 0,33	9,31 ± 0,63	11,13 ± 0,33	19,93 ± 0,27
	h	47,00 ± 1,26	51,54 ± 2,82	30,80 ± 0,64	40,48 ± 0,53	74,97 ± 0,22
	ΔE	-	2,74 ± 1,50	12,45 ± 0,62	8,75 ± 0,42	8,90 ± 1,42

Các giá trị được biểu thị dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ số a, b, c trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

4 Kết luận

Các thành phần hóa học đều có xu hướng giảm, trừ giai đoạn rang. Quá trình sấy gây ra sự suy giảm đáng kể nhất về hàm lượng các thành phần hóa học, với mức giảm từ 1,17 lần đến 3,92 lần so với hạt chưa sấy, trong khi quá trình xay chỉ gây ra sự giảm nhẹ từ 1,00 lần đến 1,15 lần. Điều này khẳng định rằng các thông số lựa chọn có thể áp dụng hiệu quả ở quy mô lớn hơn. Mẫu bột thành phẩm có hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy hóa bằng

phương pháp DPPH, ABTS, hàm lượng flavonoid và vitamin C của BHM lên men lần lượt là (116,66 ± 2,12) mg GAE/100 g DM, (47,54 ± 3,80) mg AAE/100 g DM, (55,99 ± 1,14) mg AAE/100 g DM, (5,89 ± 0,37) mg QE/100 g DM, (9,78 ± 0,43) mg/100 g.

Lời cảm ơn Công trình được hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp tỉnh “Nghiên cứu đa dạng hóa sản phẩm chế biến từ trái mít (*Artocarpus heterophyllus* Lam.)” thuộc Sở Khoa học và Công nghệ Cần Thơ.

Tài liệu tham khảo

1. T. P. V. Hung. (2016). Nghiên cứu công nghệ sản xuất rượu từ hạt mít”. Accessed: Aug. 10, 2024. [Online]. Available: <http://lib.ym.edu.vn/bitstream/YHN/32954/1/535876.pdf>
2. O. Prakash, R. Kumar, A. Mishra, and R. Gupta. (2009). *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit): an overview. *Pharmacognosy Reviews*, Vol. 3, No. 6, p. 353.
3. J. Eke-Ejiofor, E. A. Beleya, and N. I. Onyenorah. (2014). The effect of processing methods on the functional and compositional properties of jackfruit seed flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, Vol. 3, No. 3, pp. 166-173.
4. V. Carmelo, P. Bogaerts, and I. Sá-Correia. (1996). Activity of plasma membrane H^+ -ATPase and expression of PMA1 and PMA2 genes in *Saccharomyces cerevisiae* cells grown at optimal and low pH. *Archives of Microbiology*, Vol. 166, No. 5, pp. 315-320, DOI: 10.1007/s002030050389.
5. L. De Vuyst and S. Weckx. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 121, No. 1, pp. 5-17.
6. N. Camu, T. De Winter, S. K. Addo, J. S. Takrama, H. Bernaert, and L. De Vuyst. (2008). Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 88, No. 13, pp. 2288-2297, DOI: 10.1002/jsfa.3349.

7. F. O. Adetuyi and T. A. Ibrahim. (2014). Effect of fermentation time on the phenolic, flavonoid and vitamin C contents and antioxidant activities of okra (*Abelmoschus esculentus*) seeds. *Nigerian Food Journal*, Vol. 32, No. 2, pp. 128-137.
8. A. S. Mujumdar and A. S. Menon. (2020). Drying of solids: principles, classification, and selection of dryers. In *Handbook of industrial drying*, CRC Press, pp. 1-39. Accessed: Aug. 10, 2024. [Online]. Available: <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780429289774-1/drying-solids-principles-classification-selection-dryers-arun-mujumdar-anilkumar-menon>
9. A. E. Ironidi, K. K. Anokam, and U. S. Ndidi. (2013). Effect of drying methods on the phytochemicals composition and antioxidant activities of *Carica papaya* seed. Accessed: Aug. 10, 2024. [Online]. Available: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=55515bbe438afb049d3559fb00d3a9d7ffa5971f>
10. I. Zuwariah, F. Noor, M. B. Hadijah, and R. Rodhiah. (2018). Comparison of amino acid and chemical composition of jackfruit seed flour treatment. *Food Research*, Vol. 2, No. 6, pp. 539-545.
11. Y. C. Xu *et al.* (2007). Structure–activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*, Vol. 68, No. 8, pp. 1179-1188.
12. M. Park and K.-G. Lee (2021). Effect of roasting temperature and time on volatile compounds, total polyphenols, total flavonoids, and lignan of omija (*Schisandra chinensis* Baillon) fruit extract. *Food Chemistry*, Vol. 338, p. 127836.
13. S. Malkin and C. Guo. (2007). Thermal analysis of grinding. *CIRP annals*, Vol. 56, No. 2, pp. 760-782.
14. Md. M. Kamal, Md. G. F. Chowdhury, M. R. I. Shishir, A. A. Sabuz, Md. M. Islam, and Md. H. H. Khan. (2023). Impacts of drying on physicochemical properties, bioactive compounds, antioxidant capacity, and microstructure of jackfruit seed flour. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2023, DOI: 10.1007/s13399-023-04763-z.
15. D. D. de F. Leite, A. J. de M. Queiroz, R. M. F. de Figueirêdo, and L. S. L. Lima. (2019). Mathematical drying kinetics modeling of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Revista Ciência Agronômica*, Vol. 50, No. 3, pp. 361-369.
16. D. Pramudita, T. Araki, Y. Sagara, and A. H. Tambunan. (2017). Roasting and Colouring Curves for Coffee Beans with Broad Time-Temperature Variations. *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 10, No. 8, pp. 1509-1520, DOI: 10.1007/s11947-017-1912-5.

Study of chemical composition changes in fermented jackfruit seed flour during pilot-scale production

Van Chi Khang^{1*}, Le Thi Tuyet Lan², Nguyen Trinh Thi Nhu Hang¹, Nguyen Phu Thuong Nhan²

¹Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

²Department of Natural Products, Faculty of Chemical Engineering and Food Technology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City

vckhang@ntt.edu.vn

Abstract The study was conducted to evaluate the changes in chemical composition (polyphenols, flavonoids, vitamin C, and antioxidant activity assessed by DPPH and ABTS) during fermentation, drying, roasting, and grinding processes. The final flour sample exhibited polyphenol content, antioxidant activity (DPPH, ABTS), flavonoid content, and vitamin C levels of 116.66 mg GAE/100 g, 47.54 mg AAE/100 g, 55.99 mg AAE/100 g, 5.89 mg QE/100 g, and 9.78 mg/100 g, respectively. The relationships between these chemical components were assessed throughout the production stages.

Keywords *Artocarpus heterophyllus* Lam, Jackfruit seed flour, Pilot, Fermentation, Chemical composition

Nghiên cứu quy trình sản xuất “trà cascara” đóng chai

Trần Thị Thu Trà^{1,2,*}, Tôn Nữ Minh Nguyệt^{1,2}

¹Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa, ĐHQG-HCM

²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

*ttttra@hcmut.edu.vn

Tóm tắt

Ngành công nghiệp sản xuất cà phê nhân đang thải ra một lượng lớn vỏ và thịt quả (cascara) chưa được sử dụng hiệu quả. Trong nghiên cứu này, dung dịch trích ly từ vỏ và thịt quả cà phê được sử dụng để sản xuất “trà cascara đóng chai”. Vỏ và thịt quả cà phê sau quá trình trích ly, lọc bỏ bã, chỉnh đến ba giá trị pH = 3,0, pH = 3,5, pH = 4,0 và làm lạnh xuống 4 mức nhiệt độ 4 °C, 10 °C, 20 °C và 30 °C giữ trong 12 giờ để khảo sát quá trình tạo tủa.. Kết quả cho thấy khi ủ ở pH = 3,5, nhiệt độ 4 °C trong 12 giờ thì lượng kết tủa tách ra được là nhiều nhất. Điều kiện thanh trùng 85 °C, giữ nhiệt 15 phút đảm bảo tiêu chuẩn về vi sinh vật và giá trị TPC đạt cao nhất. Sản phẩm trà cascara đóng chai sản xuất theo quy trình trên đạt tiêu chuẩn quốc gia về nước giải khát TCVN 12828:2019 với điểm cảm quan về mức độ ưa thích chung là 6,5.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 04/09/2024
Được duyệt 30/10/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
kháng oxy hóa,
“trà cascara” đóng chai,
thanh trùng

1 Giới thiệu

Cà phê là loại thức uống được sử dụng nhiều thứ hai trên thế giới. Cà phê được buôn bán chủ yếu dưới dạng hạt cà phê thóc, thu được sau khi bóc bỏ các lớp vỏ bên ngoài của quả cà phê. Tỷ lệ lớp vỏ quả và thịt cà phê chiếm trên 60 % khối lượng quả tươi hay 30 % trọng lượng khô so với toàn bộ quả cà phê và được xem như là một loại phụ phẩm của công nghệ sản xuất cà phê thóc [1,2]. Trên thế giới, phụ phẩm này đã được thương mại hóa trong công nghiệp thực phẩm. Một thập kỷ trước, Aida Batlle, một người trồng cà phê tại El Salvador, đã sản xuất một loại đồ uống từ vỏ cà phê. Vỏ quả thu được từ quá trình xát vỏ cà phê trong quy trình bán ướt được loại bỏ thịt quả, làm khô. Batlle đặt tên cho loại nước giải khát này là “cascara tea”, theo cách gọi vỏ cà phê bằng tiếng Tây Ban Nha. Hai loại đồ uống thương mại dựa trên vỏ cà phê đang thu hút sự quan tâm của người tiêu dùng phương Tây là

“Antioxidant water” và “Hawaiian Coffeeberry juice”. Bai Brands là công ty nước giải khát được thành lập năm 2009 tại Princeton, New Jersey. Bai Brands sử dụng các chất chiết xuất từ “superfruit coffee” để bổ sung vào nước, tạo thành sản phẩm “Antioxidant water”. Trong đó, thuật ngữ “superfruit coffee” dùng để chỉ phần vỏ cà phê chứa chất chống oxy hóa và caffeine. Đồ uống có thể được tìm thấy tại các siêu thị khác nhau ở Hoa Kỳ [1,3]. Sản phẩm “Hawaiian Coffeeberry juice” của KonaRed, một công ty cà phê Hawaii. Sản phẩm này được ép từ vỏ và thịt quả cà phê. Các chất có hoạt tính sinh học trong nước giải khát này gồm axit chlorogenic, axit quinic và axit ferulic [4]. Tại Việt Nam trước đây, vỏ cà phê chỉ được dùng làm chất đốt và được sử dụng làm phân bón và cơ chất để nuôi trồng nấm. Từ sau 2020 đến nay, phụ phẩm này được quảng cáo và bán trên thị trường, nhưng mới chỉ có các nghiên cứu liên quan đến trích chiết các hợp chất



pectin hay polyphenol [5-7]. Chưa có các công bố về việc tận dụng vỏ và thịt cà phê để sản xuất các sản phẩm thực phẩm có lợi cho sức khỏe người tiêu dùng. Trong khi đó, nước ta lại là nước trồng và xuất khẩu cà phê đứng thứ hai trên thế giới, sản lượng vỏ và thịt quả cà phê rất lớn. Nếu có các giải pháp thích hợp để sản xuất ra các sản phẩm có giá trị gia tăng từ nguồn phụ phẩm này sẽ nâng cao được hiệu quả kinh tế của cây cà phê. Bài báo này nghiên cứu để sản xuất sản phẩm “trà cascara” đóng chai giàu các chất hợp polyphenol và khả năng kháng oxy hóa.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu của nghiên cứu này là dịch trích thu được sau quá trình trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê giống robusta (*coffea robusta* – cà phê vối) chín đỏ có sự hỗ trợ kết hợp của enzyme cellulase và pectinase [5]. Quả cà phê được thu mua tại cùng một nhà vườn ở thôn Phước Quý, xã Vụ Bản, huyện Krong Pắc, tỉnh Đắk Lắk, Việt Nam. Quy trình trích ly được thực hiện theo nghiên cứu trước đây bao gồm: quả cà phê tươi được chần 5 phút trong nước 85 °C, tách bỏ hạt, thu vỏ và thịt quả. Tiếp theo, vỏ thịt quả được bổ sung đệm dung dịch đệm citric – natri citrate pH = 4,0 theo tỷ lệ 1:10 và xay nhuyễn bằng máy xay sinh tố hút chân không Hafele BR230-19E00. Hỗn hợp sau xay được bổ sung enzyme pectinase và cellulase với hàm lượng lần lượt là 600 U/g và 400 U/g nguyên liệu và ủ ở nhiệt độ 50 °C trong thời gian 60 phút. Khi đó 1 L dịch trích có hàm lượng chất khô hòa tan (SSC) là 17,3 g/L, hàm lượng protein hòa tan là 0,4 g/L, hàm lượng caffein 0,82 g/L, hàm lượng polyphenol (TPC) là 7,4 g GAE/L, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH đạt 26,2 mM TE/L và theo FRAP đạt 24,7 mM TE/L [5].

2.2 Hóa chất

Chế phẩm enzyme có nguồn gốc từ các loài *Aspergillus niger* được cung cấp bởi công ty Angel Yeast Co., Ltd.

Cả hai chế phẩm đều có dạng bột mịn. Hoạt tính pectinase là 60 000 U/g, hoạt tính cellulase là 10 000 U/g [8].

Các hóa chất acid citric, natri citrate của Việt Nam được cung cấp bởi công ty Hóa Nam, Folin-Ciocalteu, gallic acid, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Trolox và 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine có độ tinh sạch ≥ 98 %, đạt chuẩn phân tích được cung cấp bởi Sigma-Aldrich. Hương cà phê (Coffee Flavour) mã code 1100609191 được cung cấp bởi Silesia Flavours South East Asia Pte Ltd.

2.3 Bố trí thí nghiệm

Dịch trích vỏ và thịt quả cà phê sau khi lọc trong, chỉnh pH bằng dung dịch acid citric đến các giá trị 3,0, 3,5, và 4,0, gia nhiệt đến 85 °C trong 5 phút để thanh trùng và rót vào các ống ly tâm 50 mL đã được vô khuẩn bằng cồn. Các ống ly tâm được dựng đứng và giữ yên ở các nhiệt độ 4 °C, 10 °C, 20 °C và 30 °C. Sau thời gian 12 giờ, dịch trích được ly tâm bằng máy ly tâm lạnh (Hermle, Germany) ở tốc độ 4 000 vòng/phút với các nhiệt độ 4 °C, 10 °C, 20 °C và 30 °C (tương ứng với nhiệt độ ủ) trong 30 phút. Phần cặn sẽ được tách và sấy đến khối lượng không đổi và cân định lượng. Phần nước trong được trộn với dung dịch syrup đường để đạt nồng độ chất khô sản phẩm là 14 °Bx, bổ sung thêm 0,05 % hương cà phê. Dung dịch sau phối chế sẽ được rót chai, tiến hành thanh trùng ở 85 °C trong 15 phút. Sau thời gian bảo ôn 14 ngày, sản phẩm “trà cascara” đóng chai được đánh giá cảm quan. Hội đồng cảm quan gồm 60 thành viên là sinh viên và giảng viên Trường Đại học Bách khoa và Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: màu sắc, mùi, vị, độ trong và mức độ yêu thích chung với thang điểm từ 1 – cực kỳ không thích đến 9 – cực kỳ thích. Mẫu có điểm cảm quan cao nhất sẽ được tiến hành thí nghiệm thanh trùng ở các khoảng nhiệt độ và thời gian khác nhau được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1 Bố trí thí nghiệm tạo sản phẩm trà cascara đóng chai

Thí nghiệm (TN)	Yếu tố thay đổi	Yếu tố cố định	Thông số khảo sát và điều kiện lựa chọn
TN1: Khảo sát ảnh hưởng của pH và nhiệt độ tạo kết tủa	pH = 3,0; 3,5 và 4,0 Nhiệt độ (°C): 4, 10, 20 và 30	Thời gian tạo kết tủa 12 giờ	Lượng kết tủa lớn nhất

TN2: Khảo sát ảnh hưởng của pH đến cảm quan của sản phẩm	pH: 3,0; 3,5 và 4,0	- Điều kiện tạo kết tủa: kết quả TN1 - Hàm lượng chất khô: 14 % - Nhiệt độ thanh trùng 85 °C - Thời gian thanh trùng 15 phút	Điểm cảm quan thị hiếu mức độ ưa thích chung lớn nhất
TN3: Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thanh trùng	Nhiệt độ (°C): 80; 85 và 90 Thời gian (phút): 5, 10, 15 và 20	- Điều kiện tạo kết tủa: kết quả TN1 - pH: kết quả TN2 và TN3	- TPC cao nhất và - Tổng lượng vi sinh vật hiếu khí đạt QCVN 6-2:2010/BYT

Sản phẩm sau quá trình thanh trùng được kiểm tra hàm lượng tổng vi sinh vật hiếu khí, hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa. Điều kiện thanh trùng được chọn là nhiệt độ và thời gian đảm bảo chỉ tiêu tổng lượng vi sinh vật hiếu khí đạt QCVN 6-2:2010/BYT và polyphenol tổng cao nhất. Mẫu được lựa chọn sẽ gửi đi phân tích các chỉ tiêu vi sinh khác theo QCVN 6-2:2010/BYT tại Trung tâm Phân tích Kỹ thuật cao Sài Gòn (SaigonSTC).

2.4 Phương pháp phân tích

Độ ẩm của nguyên liệu và dịch trích được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi [10]. Giá trị TPC trong mẫu dịch trích được xác định theo phương pháp quang phổ so màu với thuốc thử Folin – Ciocalteu [11]. Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp FRAP (ferric reducing antioxidant power) quy trình tham khảo theo Benzie và Strain (1999) [12] và phương pháp DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) quy trình tham khảo theo Brand-Williams và cộng sự (1995) [13]. Tổng vi sinh vật hiếu khí được kiểm tra theo TCVN 4884:2005. Đánh giá chất lượng cảm quan theo phương pháp cho điểm Hedonic thang điểm từ 1 đến 9 [15].

2.5 Phương pháp xử lý số liệu

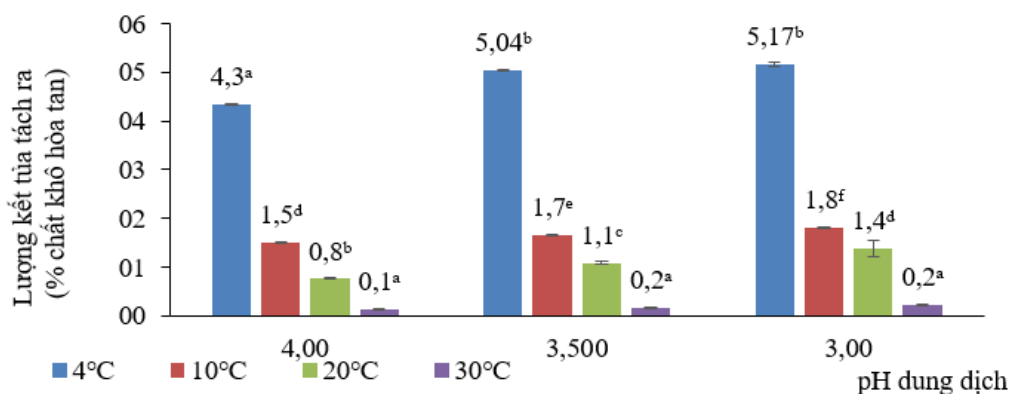
Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần. Kết quả trong bài báo là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các số liệu được xem là khác nhau có nghĩa khi $p < 0,05$. Phương pháp phân tích phương sai một yếu tố được thực hiện trên phần mềm StatGraphics 18.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khảo sát ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến quá trình tách cặn trà cascara (TN1)

Trong các thí nghiệm sơ bộ sau quá trình gia nhiệt thanh trùng trong chai, “trà cascara” tạo một lớp kết tủa trắng trong quá trình bảo quản. Trong sản xuất nước trà đóng chai thì lớp tủa trắng này được gọi là “tea cream”, được tạo thành do kết hợp của polyphenol với protein hay caffeine trong trà [16]. Mục đích của thí nghiệm này là để loại bỏ hiện tượng trên bằng cách tạo điều kiện để kết tủa xuất hiện và lọc loại bỏ trước khi tiến hành phối trộn sản phẩm.

Kết quả trình bày trên Hình 1 cho thấy lượng cặn tủa tách ra được phụ thuộc vào nhiệt độ và pH của quá trình kết tủa. Cùng một giá trị pH, nhiệt độ càng thấp lượng kết tủa tách ra được càng nhiều. So với lượng kết tủa ở nhiệt độ 4 °C, lượng kết tủa tách ra được ở 10 °C thay đổi trong khoảng 33,2 % đến 34,7 %, ở 20 °C thay đổi trong khoảng 17,5 % đến 26,3 % còn ở 30 °C chỉ được 3,1 % đến 4,3 %. Cùng một nhiệt độ lắng cặn, pH càng thấp lượng cặn tạo ra càng nhiều. Ở nhiệt độ 4 °C, lượng cặn tạo ra ở pH = 3,5 và pH = 3,0 lần lượt cao hơn pH = 4,0 là 15,4 % và 20,2 %. Khi đó, lượng kết tủa tách ra được chiếm từ (4,3-5,2) % so với hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch trích.



Hình 1 Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến quá trình tách cặn trà cascara

Trong cùng 1 hình, ký hiệu những chữ cái khác nhau thì giá trị khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Cream là thuật ngữ thường dùng để mô tả hiện tượng kết tủa không tan trong trà, khi các chất polyphenol kết hợp với protein, caffeine hoặc các hợp chất khác để tạo thành các phức hợp không hòa tan. Khi trà nguội đi, các phức hợp này sẽ kết tụ lại, dẫn đến sự hình thành của các hạt nhỏ, tạo thành một lớp màng mỏng hoặc cặn lắng dưới đáy cốc. Hiện tượng này xảy ra mạnh mẽ hơn ở nhiệt độ thấp và trong môi trường có hàm lượng polyphenol, protein tan và caffeine cao [16,17]. Do trong dịch trích vỏ và thịt quả cà phê có chứa polyphenol tổng 7,4 g GAE/L, protein tan 0,4 g/L và caffeine là 0,82g/L, có thể dự đoán nguyên nhân của quá trình tạo tủa chính là do tạo thành phức chất polyphenol – protein và đồng kết tinh của polyphenol – caffeine [16, 18-20]. Khi nghiên cứu về quá trình tạo kết tủa từ dịch trích trà đen, Liang cho rằng các yếu tố ảnh hưởng, bao gồm nhiệt độ dịch trích, nồng độ dịch trích, pH dịch trích và một số yếu tố khác như hàm lượng đường, caffeine... Trong nghiên cứu này, nồng độ dịch trích không đổi nên những yếu tố ảnh hưởng chính là nhiệt độ và pH thấp của dịch trích [21]. Nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành “cream tea”. Khi nhiệt độ giảm xuống dưới một nhiệt độ tới hạn (critical solution temperature), dịch trà bắt đầu phân tách thành hai pha không hòa tan, với một pha là “cream tea” [17]. pH ảnh hưởng trực tiếp đến độ hòa tan của các polyphenol [16]. Ở pH thấp, các nhóm phenol trở nên dễ bị proton hóa hơn, làm giảm độ hòa tan và kích thích sự kết tủa, dẫn đến sự kết tụ với caffeine và protein tạo thành “cream tea”.

Từ kết quả của TN1, dịch trích từ vỏ và thịt quả cà phê sẽ được giữ lạnh ở nhiệt độ 4 °C trong 12 giờ để tách kết tủa trước khi tiến hành quá trình phối trộn, thanh trùng và cảm quan thị hiếu. Với mục đích làm trong nước “trà cascara” sau quá trình bảo quản mà ít bổ sung hóa chất, cả ba giá trị pH = 3,0, pH = 3,5 và pH = 4,0 sẽ được khảo sát tiếp tục trong TN2 để chọn ra hương vị phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng.

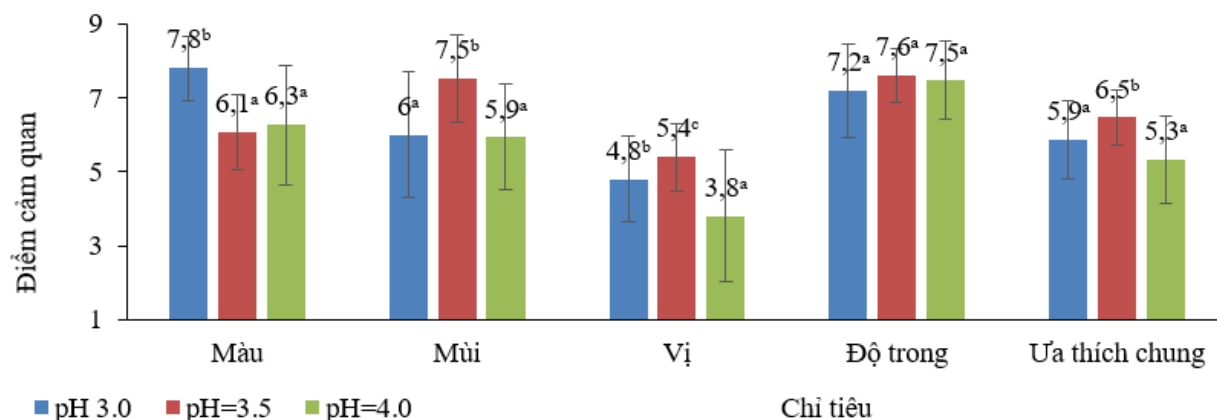
3.2 Lựa chọn công thức phối trộn cho sản phẩm trà cascara đóng chai (TN2)

Công thức phối trộn được đánh giá bằng phương pháp cảm quan thị hiếu trên thang điểm 9. Kết quả được thể hiện trên Hình 2.

Sau khi được kết tủa tách cặn theo thông số ở TN1, sản phẩm trà cascara không còn xuất hiện cặn sau 12 ngày bảo quản ở nhiệt độ phòng. Điểm cảm quan về độ trong của sản phẩm trong khoảng 7,2 đến 7,6 và không có sự khác biệt giữa các pH.

Khi sản phẩm trà cascara được phối trộn đến giá trị pH là 3,0, sản phẩm có điểm yêu thích về màu cao hơn so với pH = 3,5 và pH = 4,0 do các hợp chất anthocyanin có màu đỏ đẹp ở pH thấp. Tuy nhiên, sản phẩm ở pH = 3,0 bị đánh giá vị hơi chua, có hậu vị chát, mùi cà phê không rõ ràng, do đó điểm cảm quan về độ ưa thích chung chỉ đạt $5,9 \pm 1,0$.

Khi sản phẩm trà cascara được phối trộn đến giá trị pH = 4,0, điểm cảm quan về màu không khác biệt với giá trị này ở pH = 3,5 nhưng điểm cảm quan về vị lại thấp nhất, hậu vị chát nổi khá rõ, do đó điểm cảm quan về độ ưa thích chung cũng chỉ đạt $5,3 \pm 1,2$, không có sự khác biệt với sản phẩm ở pH = 3,0.



Hình 2 Ảnh hưởng của pH đến điểm cảm quan của sản phẩm trà cascara đóng chai

Trong cùng 1 chỉ tiêu, ký hiệu những chữ cái khác nhau thì giá trị khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Khi sản phẩm trà cascara được phối trộn đến giá trị pH = 3,5, tuy điểm cảm quan về màu không cao bằng giá trị này ở pH = 3,0 nhưng điểm cảm quan về mùi và vị đều cao hơn. Điểm cảm quan về mức độ ưa thích chung là cao nhất trong ba giá trị pH và đạt $6,5 \pm 0,7$. Giá trị độ lệch chuẩn (standard deviation) của sản phẩm trà tại pH = 3,5 chỉ bằng 50 % độ lệch chuẩn tại các pH khác cũng cho thấy có sự thống nhất khá cao về mức độ ưa thích chung giữa các thành viên tham gia cảm quan.

Kết hợp kết quả của thí nghiệm TN1 và TN2, giá trị pH 3,5 sẽ được sử dụng là pH của sản phẩm “trà cascara” cho các nghiên cứu tiếp theo sau.

3.3 Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thanh trùng đến hàm lượng vi sinh vật, hàm lượng polyphenol

tổng và khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm trà cascara đóng chai (TN3)

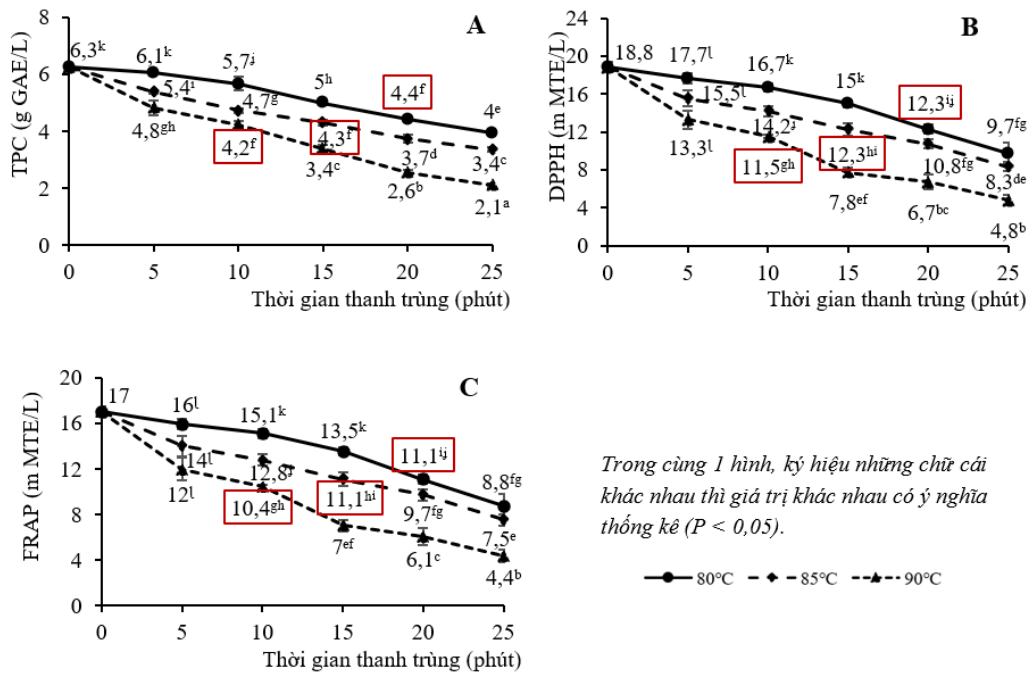
Kết quả về tổng vi sinh vật hiếu khí sau các thời gian thanh trùng được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy chế độ các chế độ thanh trùng 90 °C từ 10 phút trở lên, 85 °C từ 15 phút trở lên hay 80 °C từ 20 phút trở lên là đạt tiêu chuẩn về tổng vi sinh vật hiếu khí < 100 CFU/mL theo QCVN 6-2:2010/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống không cồn. Vì sản phẩm có giá trị pH = 3,5 thấp nên chỉ cần thanh trùng trong thời gian ngắn là có thể giảm được hàm lượng tổng vi sinh vật hiếu khí về dưới mức < 100 CFU/mL.

Bảng 2 Hàm lượng tổng vi sinh vật hiếu khí (CFU/mL) có trong sản phẩm sau thanh trùng

Thời gian (phút) \ Nhiệt độ (°C)	5	10	15	20
80	$(5,7 \pm 0,3) \times 10^4$ g	$(4,5 \pm 0,3) \times 10^3$ e	$(2,6 \pm 0,1) \times 10^2$ b	< 10^2 a
85	$(3,4 \pm 0,2) \times 10^4$ f	$(3,2 \pm 0,2) \times 10^2$ c	< 10^2 a	< 10^2 a
90	$(6,5 \pm 0,3) \times 10^2$ d	< 10^2 a	< 10^2 a	< 10^2 a

Trong cùng 1 bảng, ký hiệu những chữ cái khác nhau thì giá trị khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Tuy nhiên, khi lựa chọn chế độ thanh trùng ngoài mục đích giảm thiểu vi sinh vật còn có mục đích giữ lại được nhiều nhất các chất có hoạt tính sinh học. Do đó, ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thanh trùng đến hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa của “trà cascara” cũng đã được xác định.



Hình 3 Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thanh trùng đến (A) TPC và (B) Khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và theo (C) FRAP của “trà cascara” thanh trùng (pH = 3,5).

Kết quả trên Hình 3 cho thấy trong số các chế độ thanh trùng đạt chuẩn về vi sinh vật thì hàm lượng polyphenol tổng của “trà cascara” ở điều kiện thanh trùng 80 °C - 20 phút, 85 °C - 15 phút và 90 °C - 10 phút là không khác biệt. Nếu so sánh về khả năng kháng oxy hóa thì chế độ thanh trùng 85 °C - 15 phút không có sự khác biệt với 80 °C - 20 phút và 90 °C - 10 phút. Sản phẩm thanh trùng ở chế độ này sẽ được gửi phân tích vi sinh tại Trung tâm Phân tích Kỹ thuật cao Sài Gòn. Kết quả kiểm tra vi sinh (Bảng 3) cho thấy sản phẩm đạt chỉ tiêu vi sinh theo QCVN 6-2:2010/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống không cồn. So với

dịch trích ban đầu, sau quá trình loại bỏ kết tủa, hàm lượng chất khô giảm, đồng thời các giá trị TPC, DPPH và FRAP cũng giảm. Cụ thể ở pH = 3,5, hàm lượng polyphenol tổng giảm 15 %, DPPH giảm 28 % và FRAP giảm 31 %. Sau quá trình thanh trùng ở 85 °C - 15 phút, hàm lượng polyphenol tổng giảm thêm 30 %, DPPH giảm 35 % và FRAP giảm 35 %. Tuy vậy, sản phẩm trà cascara đóng chai có hàm lượng polyphenol tổng là $(4,31 \pm 0,09)$ g GAE/L, giá trị này cao hơn 43 lần so với quy định của hàm lượng polyphenol đối sản phẩm nước giải khát có chứa chè của tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 12828:2019 là tối thiểu chứa 100 mg/L.

Bảng 3 Các đặc tính của sản phẩm trà cascara đóng chai

Tên chỉ tiêu	Tính chất sản phẩm
Màu sắc: điểm cảm quan/mô tả	6,1 ± 0,9/Vàng ánh đỏ
Trạng thái: điểm cảm quan/mô tả	7,6 ± 0,7/Trong, không có cặn
Mùi: điểm cảm quan/mô tả	7,5 ± 1,2/Mùi đặc trưng của hương cà phê
Vị: điểm cảm quan/mô tả	5,4 ± 0,9/Vị chua ngọt hài hòa, hậu vị chất
Mức độ ưa thích chung: điểm cảm quan	6,5 ± 0,7
Nồng độ chất khô	(140 ± 5,43) g/L
Hàm lượng polyphenol tổng (g GAE/L)	4,31 ± 0,09
Khả năng quét gốc tự do theo DPPH (mM TE/L)	12,3 ± 0,6
Khả năng quét gốc tự do theo FRAP (mM TE/L)	11,1 ± 0,3

pH	3,5
Tổng số vi sinh vật hiếu khí (cfu/mL)	Không phát hiện
Tổng số nấm men, nấm mốc (cfu/mL)	Không phát hiện
<i>coli</i> (cfu/mL)	Không phát hiện
<i>Staphylococcus aureus</i> (cfu/mL)	Không phát hiện
<i>Clostridium perfringens</i> (cfu/mL)	Không phát hiện

4 Kết luận

Vỏ và thịt quả cà phê robusta chín đỏ có thể sử dụng để sản xuất “trà cascara” theo quy trình sau: quả cà phê tươi được chần 5 phút trong nước ở 85 °C để diệt enzyme, làm lạnh nhanh, tách bỏ hạt. Xay nhỏ hỗn hợp vỏ và thịt quả trong dung dịch đệm citrate pH = 4,0, tỷ lệ NL:DM = 1:10. Bổ sung thêm 600 U/g pectinase và 400 U/g cellulase rồi ủ hỗn hợp ở 50 °C trong 60 phút. Hỗn hợp sau trích ly sẽ được lọc tách bã. Dịch trích được làm lạnh xuống 4 °C và giữ trong 12 giờ rồi tiếp tục được ly tâm tách cặn. Dịch trích đã tách cặn được gia nhiệt đến 70 °C rồi phối trộn với đường để đạt 14 °Bx, chỉnh pH đến 3,5 bằng acid citric và bổ sung thêm 0,05 % hương cà phê. Sau quá trình phối trộn, hỗn hợp được gia nhiệt lên 85 °C, rót

nóng vào chai khô sạch, đóng nắp và thanh trùng ở nhiệt độ 85 °C, thời gian giữ nhiệt trong 15 phút. Sau khi làm nguội, sản phẩm được dán nhãn. Sản phẩm “trà cascara” đạt tiêu chuẩn quốc gia về nước giải khát TCVN 12828:2019 với điểm cảm quan về mức độ ưa thích chung là 6,5. Đây là sản phẩm có khả năng kháng oxy hóa cao với khả năng quét gốc tự do theo DPPH đạt $(12,3 \pm 0,6)$ mM TE/L và theo FRAP đạt $(11,1 \pm 0,3)$ mM TE/L. Để có thể đưa sản phẩm vào thực tế, cần làm thêm các nghiên cứu sản xuất đi từ nguyên liệu vỏ và thịt quả cà phê lấy từ quy trình sản xuất thực tế ở nông trại.

Lời cảm ơn

Xin cảm ơn Trường Đại học Bách khoa, ĐHQG-HCM đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. C.M. Galanakis. (2017). *Handbook of Coffee Processing by-Products: Sustainable Applications*. Academic Press, Cambridge, p.1 – 26.
2. T.H. Nguyễn and V.T. Nguyễn. (2010). *Công nghệ sản xuất chè, cà phê và ca cao*. Nhà xuất bản Lao động, Hà Nội, tr. 118-129.
3. Antioxidant Water. <https://www.drinkbai.com/> . Truy cập ngày 16/12/2021.
4. Konared® Hawaiian Coffee Fruit Juice. <https://www.konared.com/products/konared-coffeeberry-juice>. Truy cập ngày 16/12/2021.
5. T.T.T. Trần, M.K. Trần, and N.M.N. Tôn. (2021). Combicellulolytic and pectinolytic enzymes to increase the polyphenol extractability of coffee husks. *VNUHCM Journal of Engineering Technology*, 4 (2), 968.
6. T.H.T. Phạm and T.T.T. Trần. (2020). Research on factors affecting the extractability of antioxidant compounds from coffee husks abstract. *VNUHCM Journal of Engineering and Technology*, 3 (1), 375.
7. A.V. Bùi, Đ.L. Nguyễn. (2010). Nghiên cứu thu nhận pectin từ vỏ cà phê. *Tạp chí Phát triển KH&CN*, 13 (K2), 46.
8. Angel. Products Catalog. https://en.angelyeast.com/upload/files/2021/8/Products_Catalog_of_Angel.pdf. Truy cập ngày 16/12/2021.
9. QCVN. (2010). QCVN 6-2:2010/BYT: Quy chuẩn Quốc gia về đồ uống không cồn
10. R. L. Bradley. (2010). *Food Analysis*, Springer, New York p. 85-104.



11. G. A. Agbor, J. A. Vinson, and P. E. Donnelly. (2014). Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics* (IJFS) 3 (8), 147.
12. I. F. Benzie and J. Strain. (1999). *Methods in Enzymology*, Elsevier, Amsterdam, p.15-27.
13. W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier, and C. Berset. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28 (1), 25.
14. TCVN 4884:2005, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch – kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30 °C.
15. D.T. Hà. (2006). *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 90-93.
16. M.H.G.M. Penders, D.P. Jones, D. Needham et al. (1998). *Trends in Colloid and Interface Science XII*, Steinkopff, California, p. 163-170.
17. Y.C. Chao, B.H. Chiang. (1999). The Roles of catechins and caffeine in cream formation in a semi-fermented tea. *Journal of Science of Food and Agriculture* 79 (12), 1687.
18. Y.Q. Xu, X.F. Hu, C. Zou et al. (2017). Effect of saccharides on sediment formation in green tea concentrate. *LWT – Food Science and Technology* 78, 352.
19. Y.Q. Xu, G.S. Chen, Q.Z. Du et al. (2014). Sediments in concentrated green tea during low-temperature storage. *Food Chemistry* 149, 137.
20. Y.Q. Xu, X.F. Hu, P. Tang et al. (2015). The major factors influencing the formation of sediments in reconstituted green tea infusion. *Food Chemistry* 172, 831.
21. Y. Liang and Y. Xu. (2001). Effect of pH on cream particle formation and solids extraction yield of black tea. *Food Chemistry* 74 (2), 155.
22. TCVN. (2019). TCVN 12828:2019: Nước giải khát.

Research on the production process of bottled cascara beverages

Tran Thi Thu Tra^{1,2,*}, Ton Nu Minh Nguyet^{1,2}

¹Food Technology, Ho Chi Minh City University of Technology;

²Vietnam National University Ho Chi Minh City

tttra@hcmut.edu.vn

Abstract The coffee bean production industry is currently producing a substantial amount of coffee pulp and peel (cascara) that remains underutilized. This study focused on utilizing extracts from coffee pulp and peel to develop a bottled cascara beverage. Following extraction, the mixture was filtered and adjusted to pH levels of 3.0, 3.5, and 4.0. It was then cooled to temperatures of 4 °C, 10 °C, 20 °C, and 30 °C, and incubated for 12 hours to examine the precipitation of polyphenol-caffeine co-crystallization complexes. The results showed that the highest precipitate yield was obtained when the mixture was incubated at pH = 3.5 and 4 °C for 12 hours. Pasteurization at 85 °C for 15 minutes ensured microbial safety and resulted in the highest total phenolic content (TPC). The final bottled cascara beverage, produced according to this method, met The National beverage Standard TCVN 12828:2019, achieving an overall sensory preference score of 6.5.

Keywords antioxidant, bottled cascara beverages, cascara, pasteurization

Hiện trạng kỹ thuật và quản lý chất thải trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) thâm canh ở tỉnh Trà Vinh

Lê Quốc Phong

Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang
lequocphong@tgu.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9/2021 đến tháng 2/2022 thông qua phỏng vấn 40 hộ nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh ở tỉnh Trà Vinh nhằm đánh giá các khía cạnh kỹ thuật và hiện trạng quản lý chất thải ao nuôi tôm. Kết quả khảo sát cho thấy diện tích nuôi trung bình 0,80 ha/hộ, diện tích ao nuôi 0,19 ha/ao. Mật độ thả nuôi trung bình 195,3 con/m². Sau thời gian nuôi 81,5 ngày/vụ, tôm đạt tỷ lệ sống 76,1 %, hệ số thức ăn 1,18 và năng suất 26,9 tấn/ha/vụ. Phân tích hồi quy cho thấy năng suất nuôi có mối tương quan chặt chẽ với mật độ, tỷ lệ sống; và tương quan nghịch với kích cỡ tôm thu hoạch, diện tích ao nuôi ($R^2 = 0,89$). Bên cạnh đó, số hộ nuôi không xử lý nước thải và bùn thải trước khi thải ra ngoài môi trường chiếm tỷ lệ rất cao, lần lượt là 18/40 hộ (chiếm 45,0 %) và 27/40 hộ (chiếm 67,5 %). Ngoài ra, nghiên cứu cũng xác định một số khó khăn trong xử lý chất thải mà người nuôi tôm ở tỉnh Trà Vinh đang gặp phải như tốn nhiều chi phí khi xử lý chất thải, diện tích của nông hộ nuôi nhỏ và nhận thức của người nuôi về xử lý chất thải còn hạn chế. Qua đó, người nuôi cần quan tâm nhiều đến việc xử lý chất thải để phát triển bền vững nghề nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh ở tỉnh Trà Vinh.

Nhận 29/08/2024

Được duyệt 01/11/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa

kỹ thuật nuôi,
quản lý chất thải,
tôm thẻ chân trắng,
nuôi tôm thâm canh

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Tôm thẻ chân trắng (TTCT) là một trong những đối tượng thủy sản nước lợ đang được nuôi chủ lực ở các tỉnh ven biển vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nói chung và tỉnh Trà Vinh nói riêng. Theo Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Trà Vinh, tổng diện tích thả nuôi tôm nước lợ năm 2018 đạt 30 611 ha (tăng 4,9 % so với năm 2017), sản lượng thu hoạch đạt 36 010 tấn (tăng 23 % so với năm 2017); trong đó, sản lượng thu hoạch tôm sú đạt 7 935 tấn (tăng 3,2 %) và TTCT đạt 28,075 tấn (tăng 30,4 % so với năm 2017) [1]. Năm 2020, toàn tỉnh Trà Vinh đã thả

nuôi tôm sú với diện tích là 24 720 ha và TTCT là 6 789 ha; sản lượng thu hoạch đối với tôm sú và TTCT lần lượt là 12 696 tấn và 51 670 tấn [2]. Đến năm 2023, diện tích nuôi tôm sú và TTCT của tỉnh Trà Vinh đạt 31 650 ha, giá trị sản xuất đạt 7 359 tỷ đồng. Hiện nay, diện tích nuôi tôm của tỉnh Trà Vinh đứng thứ 6, năng suất đứng thứ 3 và sản lượng đứng thứ 5 các tỉnh khu vực ĐBSCL [3].

Sự phát triển vượt bậc về diện tích cũng như mức độ thâm canh hóa trong nuôi tôm dẫn đến các hộ nuôi đang phải đối mặt với nhiều khó khăn như hệ thống kênh cấp và thoát nước không đảm bảo; các vùng nuôi tôm thâm canh



không có ao xử lý nước và bùn thải trước khi thải ra ngoài môi trường nên khó kiểm soát dịch bệnh; việc lạm dụng thuốc hoá chất, kháng sinh trong quá trình nuôi làm cho nguồn nước nuôi bị ô nhiễm,... Nhận định này đã được chứng minh qua nghiên cứu [4], các hộ nuôi TTCT đều thải bỏ trực tiếp nước ao nuôi không qua xử lý ra ngoài môi trường chiếm tỷ lệ khá cao ở tỉnh Bạc Liêu (80 % hộ nuôi), tỉnh Cà Mau (35,1 % hộ nuôi) và tỉnh Sóc Trăng (23,3 % hộ nuôi). Ngoài ra, chỉ có 20 % hộ nuôi ở tỉnh Sóc Trăng, 3,3 % hộ nuôi ở tỉnh Bạc Liêu và 78,9 % hộ nuôi ở tỉnh Cà Mau cho lượng bùn sau xử lý vào khu chứa bùn; các hộ nuôi còn lại thì ủ bùn lên bờ phơi bỏ. Bên cạnh đó, kết quả khảo sát các hộ nuôi TTCT ở một số tỉnh ven biển vùng ĐBSCL cho thấy, tỷ lệ số hộ nuôi xả bỏ nước thải và bùn thải trực tiếp ra ngoài kênh rạch chiếm lần lượt là 42,3 % và 40 %; điều này đã làm phát sinh nhiều vấn đề môi trường và bùng phát dịch bệnh trên tôm rất khó kiểm soát trong thời gian tới [5].

Những thực tế trên cho thấy nguồn nước thải và bùn thải ra từ các ao nuôi TTCT thâm canh đã làm ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng nguồn nước nuôi, gây ô nhiễm môi trường và dịch bệnh phát triển. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm phân tích hiện trạng kỹ thuật nuôi và xử lý chất thải, đồng thời tìm hiểu những khó khăn trong việc xử lý chất thải ao nuôi TTCT thâm canh ở tỉnh Trà Vinh từ đó đưa ra các giải pháp quản lý phù hợp giúp nghề nuôi tôm phát triển bền vững.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong thời gian từ tháng tháng 9/2021 đến tháng 2/2022 tại các vùng nuôi TTCT trọng điểm ở 4 huyện Cầu Ngang, Trà Cú, Duyên Hải và Châu Thành của tỉnh Trà Vinh.

2.2 Thu thập số liệu

Số liệu sơ cấp: số liệu được thu thập bằng phương pháp phỏng vấn trực tiếp 40 hộ nuôi TTCT thâm canh ở tỉnh

Trà Vinh (10 hộ/huyện) bằng phiếu điều tra soạn sẵn. Các hộ nuôi phỏng vấn được lựa chọn ngẫu nhiên dựa vào các thông tin hộ nuôi TTCT (xã nuôi tập trung, quy mô nuôi, ...) do Phòng Nông nghiệp ở 4 huyện khảo sát cung cấp. Các thông tin nghiên cứu thu thập gồm: thông tin về kỹ thuật nuôi (diện tích nuôi, diện tích ao nuôi, mật độ thả, tỷ lệ sống, hệ số thức ăn, thời gian nuôi, năng suất); những khó khăn trong xử lý chất thải (nước thải và bùn đáy ao) từ các ao nuôi TTCT thâm canh.

Số liệu thứ cấp: số liệu được thu thập từ các ngành chức năng có liên quan ở địa phương nghiên cứu như: Chi cục Thủy sản tỉnh Trà Vinh, Phòng Nông nghiệp của 4 huyện khảo sát; các báo cáo và tài liệu có liên quan đến địa bàn nghiên cứu. Thông tin thứ cấp được thu thập bao gồm: báo cáo tình hình nuôi TTCT thâm canh của tỉnh Trà Vinh và 4 huyện Cầu Ngang, Trà Cú, Duyên Hải, Châu Thành.

2.3 Phân tích số liệu

Số liệu được xử lý thống kê mô tả (trung bình, độ lệch chuẩn) bằng phần mềm SPSS 16.0. Nghiên cứu xây dựng mô hình hồi quy đa biến Linear để xác định và phân tích mối tương quan giữa các yếu tố kỹ thuật đến năng suất nuôi TTCT. Mô hình hồi quy có dạng:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n$$

Trong đó:

Y: năng suất nuôi TTCT (tấn/ha/vụ).

$X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$: là các yếu tố ảnh hưởng đến năng suất nuôi TTCT.

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots, \beta_n$: là hệ số của các biến độc lập.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Hệ thống công trình ao nuôi TTCT thâm canh

Việc xây dựng hệ thống các ao nuôi tôm, ao lắng và ao xử lý chất thải có vai trò rất quan trọng để quyết định hiệu quả tài chính của vụ nuôi. Kết quả khảo sát về hệ thống công trình ao nuôi của các hộ nuôi TTCT thâm canh ở tỉnh Trà Vinh được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1 Công trình ao nuôi thâm canh TTCT

Hạng mục công trình	Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Dao động
Ao nuôi		
Số ao nuôi (ao/hộ)	2,18 $\pm$ 1,26	1-6
Tổng diện tích nuôi (ha/hộ)	0,80 $\pm$ 0,35	0,25-1,90

Diện tích ao nuôi (ha/ao)	$0,19 \pm 0,07$	0,09-0,35
Độ sâu mực nước ao nuôi (m)	$1,50 \pm 0,16$	1,20-1,70
Ao lắng		
Số ao lắng (ao/hộ)	$1,05 \pm 0,22$	1-2
Diện tích ao lắng (ha/ao)	$0,25 \pm 0,08$	0,08-0,45
Tỷ lệ diện tích ao lắng/tổng diện tích nuôi (%)	$33,3 \pm 4,30$	23,7-44,1
Ao xử lý chất thải		
Số ao xử lý chất thải ^(*) (ao/hộ)	$1,00 \pm 0,00$	1
Diện tích ao xử lý chất thải (ha/ao)	$0,09 \pm 0,02$	0,06-0,15
Tỷ lệ diện tích ao xử lý chất thải/tổng diện tích nuôi (%)	$9,40 \pm 1,20$	7,90-11,4

Ghi chú: ^(*) $n = 21$.

Các hộ nuôi TTCT thâm canh ở tỉnh Trà Vinh có tổng diện tích nuôi và số ao nuôi trung bình lần lượt là 0,80 ha/hộ (dao động (0,25-1,90) ha/hộ), 2,18 ao/hộ (dao động (1-6) ao/hộ) (Bảng 1). Kết quả khảo sát này tương tự với kết quả [6], với tổng diện tích nuôi và số ao nuôi trung bình của các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Cà Mau lần lượt là 0,72 ha/hộ và 2,35 ao/hộ; tuy nhiên thấp hơn nhiều so với báo cáo [7], diện tích nuôi và số ao nuôi ở các tỉnh vùng ĐBSCL lần lượt là 1,8 ha/hộ (dao động (0,9-3,4) ha/hộ) và 4,5 ao/hộ (dao động (4-8) ao/hộ). Qua kết quả khảo sát cho thấy diện tích của mỗi ao nuôi dao động từ (0,09-0,35) ha/ao, trung bình là 0,19 ha/ao (Bảng 1), tương đối phù hợp với diện tích trung bình mỗi ao nuôi TTCT thâm canh ở các tỉnh ĐBSCL là 0,22 ha/ao [5, 6, 8]. Đối với mô hình nuôi TTCT trong ao lót bạt và ao đất ở tỉnh Trà Vinh, diện tích ao nuôi trung bình lần lượt là 0,14 ha/ao và 0,23 ha/ao [9]. Bên cạnh đó, độ sâu mực nước của ao nuôi cũng là yếu tố rất quan trọng trong ao nuôi tôm. Nếu ao nuôi có độ sâu quá cao thường xảy ra tình trạng phân tầng nhiệt độ hay oxy hòa tan trong ao; ngược lại, nếu ao nuôi có độ sâu quá cạn thì các yếu tố môi trường nước dễ bị biến động theo ngày đêm. Độ sâu mực nước trung bình của các ao nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh trung bình 1,50 m, dao động từ 1,2 m đến 1,7 m (Bảng 1). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu [10, 11], độ sâu trung bình ao nuôi ở 3 tỉnh Bến Tre, Sóc Trăng và Kiên Giang là 1,51 m và ở tỉnh Cà Mau là 1,50 m. Theo nghiên cứu [12], diện tích ao nuôi tôm trung bình (0,1-0,2) ha và độ sâu mực nước thích hợp trong ao nuôi tôm dao động từ (1,3-1,6) m. Qua những kết quả nghiên cứu trên, nhận thấy rằng diện tích ao nuôi và độ sâu mực nước ao nuôi TTCT ở

tỉnh Trà Vinh không có khác biệt so với một số tỉnh khác ở vùng ĐBSCL, phần các hộ nuôi thường thiết kế diện tích ao nuôi nhỏ nhằm thuận tiện trong việc chăm sóc và quản lý sức khỏe tôm nuôi.

Ngoài các ao nuôi tôm, các hộ nuôi TTCT ở khu vực khảo sát có bố trí ao lắng trong hệ thống nuôi nhằm để kiểm soát và duy trì chất lượng nước trước khi đưa vào ao nuôi, hạn chế lây lan mầm bệnh vào khu nuôi. Hầu hết các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh đều có ao lắng (40/40 hộ nuôi, chiếm 100 %) với số ao lắng trung bình là 1,05 ao/hộ, diện tích ao lắng trung bình là 0,25 ha/ao, tỷ lệ diện tích ao lắng so với tổng diện tích nuôi chiếm 33,3 % (Bảng 1). Kết quả nghiên cứu này tương đối phù hợp với nghiên cứu [13], khi khảo sát 60 hộ nuôi TTCT thâm canh ở 2 huyện Duyên Hải và Cầu Ngang tỉnh Trà Vinh, diện tích ao lắng trung bình là 0,27 ha/ao và tỷ lệ diện tích ao lắng/tổng diện tích nuôi là 31,3 %. Tương tự, kết quả khảo sát [4] ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau cho thấy, tỷ lệ diện tích ao lắng/tổng diện tích nuôi dao động (24,4-39,1) % (trung bình 29,9 %). Đối với mô hình nuôi tôm thâm canh, dựa vào QCVN 02-19:2014/BNNPTNT, diện tích ao lắng chiếm tối thiểu là 15 % tổng diện tích nuôi [14]; hay diện tích ao lắng thường chiếm (20-25) % tổng diện tích nuôi [12].

Lượng chất thải trong ao nuôi tích tụ sẽ rất lớn, nếu trực tiếp xả thải ra môi trường sẽ làm ô nhiễm môi trường xung quanh, làm lây lan mầm bệnh, ... Chính vì vậy, việc thiết kế ao xử lý chất thải trong hệ thống công trình ao nuôi là rất cần thiết. Ao xử lý chất thải được dùng để xử lý chất thải từ các ao nuôi tôm thải ra ngoài kênh rạch tự nhiên nhằm hạn chế gây ô nhiễm môi trường trong khu vực nuôi, diện tích ao xử lý chất thải thường chiếm (10-

15) % tổng diện tích nuôi [12, 14]. Kết quả khảo sát các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh cho thấy chỉ có 21/30 hộ nuôi (chiếm 52,5 %) có ao xử lý chất thải với diện tích trung bình là 0,09 ha/ao và tỷ lệ diện tích ao xử lý chất thải/tổng diện tích nuôi là 9,40 % (Bảng 1). Trong báo cáo gần đây của nghiên cứu [4] ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau, số hộ nuôi TTCT có thiết kế ao xử lý chất thải trong hệ thống nuôi tương đối thấp, chỉ có 36/90 hộ nuôi (chiếm 40 %) có ao xử lý chất thải với diện tích trung bình là 0,2 ha/ao. Điều này chứng tỏ các hộ nuôi TTCT ở vùng ĐBSCL nói chung và tỉnh Trà Vinh nói riêng chưa quan tâm nhiều đến xử lý chất thải từ ao nuôi tôm trước khi thải ra ngoài môi trường; từ đó sẽ gây ô nhiễm môi trường nước, lây lan dịch bệnh và ảnh hưởng đến sự phát triển bền vững nghề nuôi TTCT trong thời gian tới.

3.2 Các khía cạnh kỹ thuật mô hình nuôi TTCT thâm canh

Các hộ nuôi TTCT ở Trà Vinh có rất nhiều năm kinh nghiệm trong nuôi tôm thương phẩm, dao động từ 6 năm đến 11 năm, trung bình 8,51 năm (Bảng 2). Kết quả này tương tự với ghi nhận trong nghiên cứu [15],

số năm kinh nghiệm nuôi TTCT thâm canh ở tỉnh Bến Tre dao động từ 2 năm đến 17 năm, trung bình là 9,4 năm. Những nguồn kinh nghiệm nuôi của các hộ nuôi TTCT tại địa phương khảo sát có được chủ yếu từ tự tích lũy kinh nghiệm qua các vụ nuôi (chiếm 87,5 %); trao đổi thông tin – kỹ thuật qua bạn bè (chiếm 47,5 %); tham gia các hoạt động thông qua tập huấn/hội thảo (chiếm 40,0 %) và kinh nghiệm nuôi từ báo đài hay internet (chiếm 5,0 %).

Mật độ tôm thả nuôi phụ thuộc rất nhiều yếu tố như trình độ kỹ thuật của người nuôi, khả năng đầu tư trang thiết bị, thức ăn, hóa chất, mức độ hoàn chỉnh của hệ thống ao nuôi, mùa vụ thả nuôi và kích cỡ tôm nuôi [12]. Đối với mô hình nuôi TTCT thâm canh ở tỉnh Trà Vinh trong nghiên cứu này, mật độ thả nuôi trung bình là 195,3 con/m², dao động (110-285) con/m² (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu này tương đối phù hợp với kết quả khảo sát các hộ nuôi TTCT trong ao lót bạt ở tỉnh Trà Vinh, mật độ thả nuôi dao động từ (195-213) con/m² [9, 13]. Một số nghiên cứu khác cho rằng mật độ thả nuôi TTCT thâm canh ở vùng ĐBSCL dao động từ (152,6-253) con/m² [7, 11, 15].

Bảng 2 Đặc điểm kỹ thuật của mô hình nuôi thâm canh TTCT

Các chỉ tiêu	Trung bình ± độ lệch chuẩn	Dao động
Kinh nghiệm nuôi (năm)	8,51 ± 1,55	6-11
Mật độ nuôi (con/m ²)	195,30 ± 45,80	110-285
Kích cỡ tôm thu hoạch (con/kg)	48,80 ± 4,45	36,60-59,50
Thời gian nuôi (ngày/vụ)	81,50 ± 7,47	70-102
Tỷ lệ sống (%)	76,10 ± 5,88	65-87
Hệ số thức ăn	1,21 ± 0,07	1,1-1,40
Năng suất (tấn/ha/vụ)	26,90 ± 7,62	10-42

Thời gian nuôi phụ thuộc vào giá bán tôm, kỹ thuật nuôi và nhu cầu tôm trên thị trường. Sau thời gian nuôi từ (70-102) ngày/vụ (trung bình 81,5 ngày/vụ), người nuôi tiến hành thu hoạch với cỡ tôm thu hoạch trung bình là 48,8 con/kg, tỷ lệ sống đạt 76,1 % (dao động (65-87) %) và hệ số thức ăn là 1,21 (dao động từ 1,1 – 1,4) (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với kết quả khảo sát 90 hộ nuôi TTCT ở các tỉnh vùng ĐBSCL, tỷ lệ sống, thời gian nuôi và hệ số thức ăn trung bình lần lượt là 78,9 %, 79,2 ngày/vụ và 1,20 [10]. Bên cạnh đó, kết quả khảo sát các hộ nuôi TTCT

ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau cho thấy tỷ lệ sống, thời gian nuôi và hệ số thức ăn khi nuôi TTCT trong ao đất và ao lót bạt dao động lần lượt là (76-80) %, (85-89) ngày/vụ và 1,16-1,23 [16]. Ngoài ra, các báo cáo gần đây ở một số tỉnh ven biển vùng ĐBSCL cũng nhận định rằng hệ số thức ăn thường dao động từ 1,20-1,30 [7, 13, 17].

Năng suất tôm nuôi phụ thuộc vào mật độ thả nuôi, mức độ đầu tư trang thiết bị, kinh nghiệm và khả năng quản lý của người nuôi, dịch bệnh và điều kiện môi trường tự nhiên. Qua khảo sát các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Trà

Vinh cho thấy năng suất nuôi trung bình là 26,9 tấn/ha/vụ với mật độ nuôi trung bình 195,3 con/m² (Bảng 2). Năng suất nuôi TTCT trong nghiên cứu này (26,9 tấn/ha/vụ) tương đối cao hơn so với nghiên cứu [15] ở tỉnh Bến Tre, năng suất trung bình đạt 23,4 tấn/ha/vụ; nguyên nhân do các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Bến Tre thả nuôi với mật độ thấp hơn (mật độ trung bình 152,6 con/m²). Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác cho thấy khi thả nuôi TTCT trong ao đất với mật độ (67-87) con/m² thì năng suất chỉ đạt (10-12) tấn/ha/vụ; trong khi đó, mô hình nuôi TTCT trong ao lót bạt đạt năng suất (47-48) tấn/ha/vụ khi thả nuôi với mật độ từ (195-303) con/m² [9, 16]. Tương tự, các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Cà Mau đạt năng suất trung bình là 39,7 tấn/ha/vụ khi nuôi tôm với mật độ 253 con/m² [11].

3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến năng suất nuôi TTCT
Để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến năng suất nuôi TTCT của các hộ nuôi ở tỉnh Tiền Giang, nghiên cứu đã xây dựng mô hình hồi quy tuyến tính đa biến và kết quả như sau:

$$Y = 0,131 X_1 + 0,345 X_2 - 0,603 X_3 - 14,695 X_4$$

$$(R^2 = 0,897; \text{Sig} = 0,00)$$

Trong đó:

Y: năng suất (tấn/ha/vụ); X₁: mật độ (con/m²); X₂: tỷ lệ sống (%); X₃: cỡ tôm thu hoạch (con/kg); X₄: diện tích ao nuôi (ha/ao).

Từ phương trình trên cho thấy năng suất (Y) có mối quan hệ với các biến độc lập như mật độ (X₁), tỷ lệ sống (X₂), cỡ tôm thu hoạch (X₃) và diện tích ao nuôi (X₄). Khi các yếu tố này có thay đổi thì năng suất thu hoạch TTCT của nông hộ sẽ thay đổi theo. Hai yếu tố mật độ (X₁) và tỷ lệ sống (X₂) có mối tương quan chặt chẽ và tỷ lệ thuận với năng suất (Y); nghĩa là khi mật độ nuôi tăng 1 con/m² thì năng suất tăng thêm 0,131 tấn/ha/vụ và khi tỷ lệ sống tăng 1 % thì năng suất sẽ tăng 0,345 tấn/ha/vụ. Ngược lại, kích cỡ tôm thu hoạch (X₃) và diện tích ao nuôi (X₄) có tương quan nghịch với năng suất. Khi kích cỡ tôm thu hoạch giảm xuống 1 con/kg, năng suất nuôi sẽ tăng thêm 0,603 tấn/ha/vụ. Ngoài ra, phương trình trên cho thấy khi diện tích ao nuôi nhỏ thì năng suất nuôi sẽ tăng lên. Nhận định này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu [5, 6], các tác giả cho rằng diện tích ao nuôi càng lớn thì năng suất có xu hướng giảm, nguyên nhân do ao nuôi có

diện tích nhỏ thì thuận tiện quản lý, chăm sóc sức khỏe tôm và ổn định các yếu tố môi trường trong quá trình nuôi nên năng suất đạt được sẽ cao hơn.

3.4 Hiện trạng xử lý chất thải ao nuôi TTCT thâm canh
Sau mỗi vụ nuôi, nếu chất lượng nước còn tốt hoặc vụ trước đạt được lợi nhuận cao thì người nuôi sẽ tái sử dụng nước (giữ nước lại và sử dụng cho vụ nuôi tiếp theo). Ngược lại, nếu chất lượng nước kém, vụ trước thua lỗ, dịch bệnh thì nước trong ao nuôi sẽ thải bỏ trực tiếp ra ngoài môi trường. Kết quả cho thấy đa số các hộ nuôi đều thải bỏ trực tiếp nước thải từ ao nuôi tôm ra ngoài môi trường không qua xử lý (có 18/40 hộ nuôi, chiếm tỷ lệ 45,0 %) và chỉ có 22/40 hộ nuôi (chiếm tỷ lệ 55,0 %) tái sử dụng lại nguồn nước nuôi bằng cách sử dụng một số hóa chất chủ yếu như vôi Ca(OH)₂, chlorine, BKC,... Kết quả này tương đồng với kết quả khảo sát 120 hộ nuôi TTCT ở 5 tỉnh Bến Tre, Trà Vinh, Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau, có 55/120 hộ nuôi (chiếm 45,8 %) thải bỏ trực tiếp ra ngoài kênh rạch và chỉ có 65/120 hộ nuôi (chiếm 54,2 %) tái sử dụng nước [5]. Tương tự, trong báo cáo nghiên cứu [4] cho thấy tỷ lệ số hộ nuôi TTCT thải bỏ trực tiếp nước thải ra ngoài môi trường ở tỉnh Bạc Liêu chiếm cao nhất là 80 %, kế đến tỉnh Cà Mau (chiếm 35,1 %) và thấp nhất ở tỉnh Sóc Trăng (chiếm 23,3 %). Sau mỗi vụ nuôi, lượng bùn thải ở đáy ao (thức ăn dư thừa, xác tảo, phân tôm, xác phiêu sinh vật, vôi,...) tích tụ rất nhiều. Chính vì thế, trước khi bắt đầu một vụ nuôi mới, hầu hết các hộ nuôi TTCT (40/40 hộ, chiếm 100 %) ở tỉnh Trà Vinh đều thực hiện cải tạo ao nhằm tạo môi trường ao nuôi sạch, ngăn ngừa các tác nhân gây bệnh và quản lý được các yếu tố môi trường ao nuôi ổn định. Kết quả khảo sát ghi nhận đa số các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh đều thải trực tiếp bùn đáy ao ra ngoài môi trường không qua xử lý (có 27/40 hộ nuôi, chiếm tỷ lệ 67,5 %) và chỉ có 13/40 hộ nuôi (chiếm tỷ lệ 32,5 %) có xử lý bùn thải ao nuôi tôm. Cách xử lý bùn thải ao nuôi tôm của các hộ nuôi ở đây rất đơn giản, chủ yếu là chứa bùn trong ao xử lý chất thải và phơi khô bùn để đắp bờ ao hoặc sang lấp mặt bằng. Tuy nhiên, việc phơi khô bùn đáy ao chỉ thực hiện vào mùa nắng, nếu vào mùa mưa thì các hộ nuôi này cũng xả thải trực tiếp bùn ra kênh rạch tự nhiên. Mặc dù các hộ nuôi có thiết kế

ao xử lý chất thải, nhưng do diện tích khu chứa chất thải này nhỏ (tỷ lệ diện tích ao xử lý chất thải/tổng diện tích nuôi chỉ đạt 9,40 % (Bảng 1) nên không chứa hết lượng bùn thải ra; do đó các hộ nuôi này chỉ xử lý một phần nhỏ lượng bùn thải từ ao nuôi tôm, còn phần lớn lượng bùn thải sẽ thải trực tiếp ra kênh, rạch tự nhiên mà không qua xử lý. Kết quả này cho thấy tỷ lệ số hộ nuôi xả thải trực tiếp bùn ra ngoài môi trường (chiếm 67,5 %) cao hơn nhiều so với nghiên cứu [5], tỷ lệ số hộ nuôi xả thải trực tiếp bùn ra ngoài kênh rạch tự nhiên ở các tỉnh vùng ĐBSCL chỉ chiếm 40 %.

Việc xả nước thải và bùn từ ao nuôi tôm ra ngoài môi trường không qua xử lý đã làm ảnh hưởng đến chất lượng nguồn nước trên kênh rạch và làm tăng quá trình lây lan mầm bệnh cho tôm do hàm lượng nitrogen và phosphor có rất nhiều trong nước thải và bùn thải ao nuôi tôm [4]. Thêm vào đó, kết quả nghiên cứu [17] cho rằng lượng carbon, nitrogen và phospho từ thức ăn được tích trong cơ thể tôm rất thấp so với lượng được cung cấp từ thức ăn. Tỷ lệ nitrogen và phospho thải ra môi trường khá cao, có thể dẫn đến ô nhiễm môi trường, đặc biệt là các ao có mật độ nuôi lớn hơn 100 con/m². Trong báo cáo [5], nguồn nước thải và bùn thải từ ao nuôi tôm thải trực tiếp ra kênh rạch mà không qua xử lý sẽ dẫn đến bùng phát các bệnh nguy hiểm trên tôm, cụ thể tỷ lệ số hộ nuôi gặp phải bệnh gan tụy cấp (AHPND) chiếm 81,67 % và bệnh phân trắng (WFD) chiếm 95,6 %.

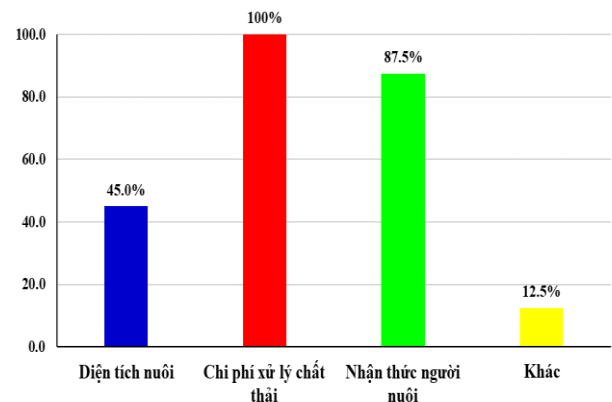
Qua những kết quả khảo sát về việc xử lý nguồn nước thải và bùn đáy ao của các hộ nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh cho thấy các hộ nuôi chưa quan tâm và xử lý triệt để nguồn chất thải (nước thải và bùn đáy ao); điều này sẽ gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng và làm tăng nguy cơ bùng phát dịch bệnh trên tôm rất khó kiểm soát ở các khu vực xung quanh vùng nuôi tôm của tỉnh Trà Vinh.

3.5 Khó khăn trong xử lý chất thải ao nuôi TTCT

Qua ghi nhận từ khảo sát 40 hộ nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh đã nhận thấy một số khó khăn mà người nuôi tôm đang gặp phải trong vấn đề xử lý nguồn nước thải và bùn đáy ao từ các ao nuôi tôm thương phẩm. Khó khăn nhiều nhất mà các hộ nuôi TTCT cho rằng là tốn kém nhiều chi phí khi xử lý chất thải, có 40/40 hộ nuôi (chiếm tỷ lệ 100 %) (Hình 1). Nguyên nhân do chi phí đầu tư của các hộ nuôi tương đối cao (con giống, thức ăn, thuốc hóa

chất,...), do đó người nuôi chỉ quan tâm đến việc đầu tư chi phí để quản lý tốt môi trường ao nuôi, sức khỏe của tôm và hạn chế thấp nhất chi phí xử lý chất thải sau mỗi vụ nuôi. Ngoài ra, các hộ nuôi TTCT được khảo sát đều nuôi theo hình thức hộ gia đình nên nguồn vốn đầu tư vào để nuôi tôm tương đối thấp.

Bên cạnh đó, diện tích nuôi cũng là vấn đề trăn trở của người nuôi (có 18/40 hộ nuôi, chiếm 45,0 %) (Hình 1). Do các hộ nuôi TTCT có diện tích nuôi nhỏ (diện tích nuôi trung bình là 0,80 ha/hộ - Bảng 1), người nuôi rất hạn chế xây dựng ao xử lý chất thải trong hệ thống nuôi. Điều này cho thấy người nuôi chỉ tập trung vào sản xuất mà ít quan tâm đến việc quản lý và xử lý chất thải sau mỗi vụ nuôi.



Hình 1 Khó khăn trong quản lý và xử lý chất thải

Một khó khăn khác cũng đáng quan tâm đó là nhận thức của người nuôi còn thấp hay sự chủ quan thiếu ý thức về môi trường nước, kết quả ghi nhận được 35/40 hộ nuôi (chiếm 87,5 %) (Hình 1). Việc xả nước thải chưa qua xử lý ra ngoài môi trường còn khá tùy tiện, phần lớn dịch bệnh trên tôm phát sinh và lây lan từ các nguồn nước thải, khiến cho nhiều hộ nuôi thiệt hại nặng nề. Cuối cùng, một số khó khăn khác mà người nuôi gặp phải là các hộ nuôi tôm tự phát không theo quy hoạch, sự bồi lấp các kênh rạch cấp thoát nước, không có hệ thống cấp và thoát nước riêng biệt,... (có 5/40 hộ nuôi, chiếm 12,5 %) (Hình 1). Nguyên nhân do những hộ nuôi này nằm sâu trong nội đồng và việc bồi lấp các kênh rạch cấp thoát nước (do xả thải bùn mà không có thường xuyên nạo vét kênh rạch), đồng thời cấp nước và thải chất thải chỉ trên một hệ thống kênh rạch chung. Do đó, các hộ nuôi gặp khó khăn trong việc lấy nước cho ao nuôi cũng như thải nước thải và chất thải ra

ngoài môi trường, dịch bệnh có thể lây lan từ nguồn nước xả thải trực tiếp của hộ nuôi này qua các hộ nuôi khác trong khu vực.

4 Kết luận

Mô hình nuôi TTCT ở tỉnh Trà Vinh có tổng diện tích nuôi là 0,80 ha/hộ, diện tích mỗi ao nuôi là 0,19 ha/ao với độ sâu mực nước là 1,50 m. Mật độ thả nuôi là 195,3 con/m². Thời gian nuôi là 81,5 ngày với tỷ lệ sống là 76,1 %, hệ số thức ăn 1,21 và năng suất đạt 26,9 tấn/ha/vụ. Năng suất có mối tương quan chặt chẽ và tỷ lệ thuận với mật độ và tỷ lệ sống, nhưng tỷ lệ nghịch với cỡ tôm thu hoạch và diện tích ao nuôi ($R^2 = 0,897$).

Sau mỗi vụ nuôi, nước từ ao nuôi tôm thải trực tiếp ra ngoài môi trường chiếm tỷ lệ khá cao (45,0 %) và chỉ có 55 % hộ nuôi tái sử dụng lại nguồn nước nuôi. Các hộ nuôi TTCT thải bùn trực tiếp ra ngoài môi trường không qua xử lý, chiếm tỷ lệ rất cao (67,5 %).

Những khó khăn trong xử lý chất thải ao nuôi TTCT là tốn nhiều chi phí, diện tích nuôi nhỏ và nhận thức của người nuôi còn hạn chế. Vì vậy, chính quyền địa phương cần tăng cường vận động các hộ nuôi TTCT sử dụng một phần nhỏ diện tích đất để thiết kế xây dựng ao xử lý chất thải trong công trình nuôi tôm thâm canh. Đồng thời, cần nghiên cứu mô hình xử lý chất thải từ ao nuôi theo hướng tiết kiệm, đơn giản và hiệu quả.

Tài liệu tham khảo

1. Xuân Diễm. 2018. Trà Vinh: Chủ động phòng chống dịch bệnh tôm nuôi nước mặn lợ 2018. Nguồn: <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/Nu%C3%B4i-tr%E1%BB%93ng-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/Qu%E1%BA%A3n-l%C3%BD-m%C3%B4i-tr%E1%BB%9Dng/doc-tin/011434/2018-09-24/tra-vinh-chu-dong-phong-chong-dich-benh-tom-nuoi-nuoc-man-lo-2018>. Ngày truy cập: 19/07/2024.
2. Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam (2020). *Sản lượng tôm nuôi của Trà Vinh vượt kế hoạch cả năm*. Nguồn: <http://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/tom/nguyen-lieu/san-luong-tom-nuoi-cua-tra-vinh-vuot-ke-hoach-ca-nam-10984.html>. Ngày truy cập: 19/07/2024.
3. Vân Anh. 2024. Trà Vinh: Bàn giải pháp thúc đẩy phát triển ngành tôm nước lợ. Nguồn: <https://thuysanvietnam.com.vn/tra-vinh-ban-giai-phap-thuc-day-phat-trien-nganh-tom-nuoc-lo/>. Ngày truy cập: 19/07/2024.
4. Lê Trần Tiểu Trúc, Nguyễn Thị Bé Ly, Đặng Thị Thúy Ái, Nguyễn Thị Hồng Ngọc, Đặng Thị Thu Trang, Phạm Việt Nữ, Ngô Thụy Diễm Trang. (2018). Hiện trạng quản lý và xử lý chất thải từ ao nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) thâm canh tại Sóc Trăng, Bạc Liêu, Cà Mau. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54 (1B), 82-91.
5. Nguyễn Văn Phụng, Phan Thanh Lâm. (2019). Phân tích hiệu quả kỹ thuật của mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng tại Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Nghề cá sông Cửu Long*, 15, 43-55.
6. Nguyễn Thanh Long, Huỳnh Văn Hiền. (2015). Phân tích hiệu quả kinh tế và tài chính của mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng ở tỉnh Cà Mau. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 37 (1), 105-111.
7. Huỳnh Văn Hiền, Đặng Thị Phụng, Nguyễn Thị Kim Quyên (2021). Hiệu quả kỹ thuật tài chính của mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) thâm canh trong ao lót bạt ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 05 (126), 109-114.
8. Đặng Thị Phụng, Huỳnh Văn Hiền, Nguyễn Thị Kim Quyên, Lê Nguyễn Đoàn Khôi, Nobuyuki Yagi. (2020). Hiệu quả kỹ thuật của mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) quy mô nông hộ ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2, 110-116.
9. Nguyễn Văn Tiếp. 2020. *Đánh giá hiện trạng nuôi tôm thẻ chân trắng (Litopenaeus vannamei) thâm canh trong ao đất và ao lót bạt tại tỉnh Trà Vinh*. Luận văn Thạc sĩ Nuôi trồng thủy sản. Trường Đại học Trà Vinh.
10. Đỗ Minh Vạnh, Trần Hoàng Tuấn, Trần Ngọc Hải, Trương Hoàng Minh. (2016). Đánh giá hiệu quả nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh theo các mô hình tổ chức ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 42, 50-57.



11. Lê Thị Phương Mai, Nguyễn Văn Nay, Lưu Tiến Thuận. (2021). Hiện trạng nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) tại Hợp tác xã nuôi tôm năng suất cao Tân Hưng, huyện Cái Nước, tỉnh Cà Mau. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57 (2B), 151-160.
12. Trần Ngọc Hải, Châu Tài Tảo, Nguyễn Thanh Phương. (2017). *Giáo trình kỹ thuật sản xuất giống và nuôi giáp xác*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
13. Nguyễn Quốc Thịnh, Masashi Maita, Trần Minh Phú. (2020). Khảo sát tình hình sử dụng thuốc và hoá chất trong nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) ở tỉnh Trà Vinh. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2, 70-77.
14. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. (2014). QCVN 02 - 19 : 2014/bnnpnt - *Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về cơ sở nuôi tôm nước lợ - điều kiện đảm bảo vệ sinh thú y, bảo vệ môi trường và an toàn thực phẩm*, Hà Nội, hiệu lực thi hành kể từ ngày 29 tháng 7 năm 2014.
15. Nguyễn Công Tráng, Nguyễn Hoài Duy Thanh. (2020). Phân tích hiện trạng kinh tế nghề nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) tại Bến Tre. *Hội nghị khoa học trẻ toàn quốc ngành thủy sản lần thứ 10*, Trường Đại học Nha Trang.
16. Võ Nam Sơn, Đào Minh Hải, Nguyễn Thế Diên, Vũ Văn Thùy, Đinh Xuân Lập, Nguyễn Đỗ Quỳnh, Nguyễn Thanh Phương. (2019). Phân tích hiệu quả sản xuất và sử dụng năng lượng điện trong nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) và tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) thâm canh và quảng canh cải tiến ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55 (1B), 66-79.
17. Nguyễn Thị Bích Vân, Nguyễn Phúc Cẩm Tú, Đinh Thế Nhân, Nguyễn Phú Hòa. (2018). Khảo sát hiện trạng kỹ thuật nuôi và sự tích lũy carbon hữu cơ, nitrogen và phosphorus trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh tại Bạc Liêu. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 60 (5), 49-55.

Current status of culturing techniques and wastes management in intensive whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds in Tra Vinh province

Le Quoc Phong

Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University

lequocphong@tgu.edu.vn

Abstract This study was conducted from September 2021 to February 2022 by interviewing 40 households culturing whiteleg shrimps in Tra Vinh province, Viet Nam. The aims of this study were to assess the culture techniques and management status of derived wastes from whiteleg shrimp ponds. Results have shown that the average culture area for each household was 0.80 ha and the average pond area was 0.19 ha/pond. Shrimps were stocked at a density of 195.3 individuals/m². After culture period of 81.5 days/crop, shrimps were harvested with the survival rate around 76.1 %, feed conversion ratio was 1.18 and the average yield of 26.9 tons/ha/crop. The result from regression analysis showed that the shrimp yield was closely correlated to the stocking density, survival rate, while negatively correlated to shrimp market size and area of ponds ($R^2 = 0.89$). In addition, the result also indicated that the number of households without treating wastewater and sediment of pond prior discharging into the environment were high, with 18/40 households (45.0 %) and 27/40 households (67.5 %), respectively. Moreover, shrimp farmers in Tra Vinh province are facing some difficulties in treating wastes, including the high cost of wastes treatment, small culture area and limited awareness. Therefore, farmers need concerns on treating wastes for sustainable development and intensive whiteleg shrimp farming in Tra Vinh province.

Keywords farming technique, wastes mangement, whiteleg shrimp, intensive shrimp farming



Nghiên cứu chế biến rượu chưng cất từ mít Thái thứ phẩm (*Artocarpus heterophyllus* Lam.)

Nguyễn Văn Ngọc Phương*, Nguyễn Tấn Hùng

Trường Đại học Tiền Giang, Tiền Giang, Việt Nam

*nguyenvannocphuong@tgu.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện để khảo sát ảnh hưởng của 3 yếu tố bao gồm tỷ lệ nấm men (0,4 % - 1,2 % (w/v), độ Brix (22-30) và pH = (3,6-4,5) đến độ rượu của sản phẩm rượu từ mít Thái. Thử nghiệm được thiết kế theo mô hình Box-Behnken để xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình lên men dịch mít. Dịch mít sau lên men được chưng cất để đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của rượu (methanol, aldehyde và cảm quan). Kết quả cho thấy hàm lượng ethanol của dịch mít sau lên men đạt 15,31 % (v/v) khi lên men 9 ngày ở các điều kiện thích hợp được xác định tỷ lệ men 0,799 %, dịch quả ở 26,71 °Bx và pH = 4,06. Chất lượng mít sau chưng cất đạt Tiêu chuẩn Việt Nam theo TCVN 7045: 2013 và có chất lượng cảm quan khá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, có thể tận dụng nguồn mít Thái thứ phẩm làm nguyên liệu lên men rượu nhằm tạo ra sản phẩm có giá trị gia tăng cũng như góp phần đa dạng hóa sản phẩm và nâng cao giá trị kinh tế cho mít thứ phẩm.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 04/09/2024
Được duyệt 03/12/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
điều kiện tối ưu,
lên men rượu, mít Thái,
rượu mít

1 Đặt vấn đề

Mít (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) có nguồn gốc từ Ấn Độ là loại quả lớn nhất trong số các loại quả ăn được thuộc họ *Moraceae* [1]. Khi trái chín, thịt mít chứa khoảng (7-15) % đường sucrose theo trọng lượng với hương vị rất đặc biệt [2]. Tại Việt Nam, mít được trồng từ Bắc vào Nam, từ ven biển, đồng bằng lên miền núi. Ở miền Nam mít được trồng nhiều ở Đồng Nai, Bình Dương, Vĩnh Long, Đồng Tháp, Tiền Giang,..., với mít tố nữ, mít nghệ, mít dừa,... Trong đó, mít Thái là giống cây dễ trồng, ít công chăm sóc, thời gian sinh trưởng ngắn, cho thu hoạch nhanh, năng suất cao, đậu trái quanh năm, múi mọng và giòn ngọt, đặc biệt giá tăng cao trong thời gian gần đây nên được người nông dân trồng nhiều. Trong quá trình thu mua phục vụ cho xuất khẩu dạng tươi, thương lái thường chọn các trái mít lớn, tròn, màu sắc đẹp và đồng đều. Mít sót hạng, không đủ

quy cách hay còn gọi là mít chợ, đặc biệt là mít xơ đen (ít) được thu mua với giá rất thấp. Mặc dù là mít thứ phẩm, sau khi loại bỏ thành phần không ăn được, nguồn nguyên liệu này có thành phần hóa học tương tự với nguyên liệu sử dụng cho ăn tươi và là nguồn nguyên liệu rẻ tiền thích hợp cho quá trình chế biến các sản phẩm từ mít. Các công bố trước đây về sử dụng quả mít trong chế biến, đa phần sử dụng nguyên liệu chính phẩm và chưa quan tâm nhiều đến mít thứ phẩm như mít xơ đen, mít chợ để chế biến thành các sản phẩm có giá trị kinh tế.

Quá trình chưng cất dựa trên sự khác nhau về nhiệt độ sôi của các cấu tử trong hỗn hợp ở một áp suất nhất định. Người ta dùng nhiệt để chuyển hỗn hợp lỏng sang pha hơi và thu chất lỏng ở khoảng nhiệt độ thích hợp bằng cách cho hơi ngưng tụ [3]. Quá trình chưng cất được tiến hành bằng cách đun sôi hỗn hợp dịch lên men, hỗn hợp hơi bay lên được qua hệ thống làm lạnh

và ngưng tụ thành rượu. Rượu được chưng cất nhằm loại bỏ một số tạp chất độc hại được sinh ra trong quá trình lên men và làm tăng độ cồn [4].

Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) là một kỹ thuật thống kê hiệu quả để tối ưu hóa các quá trình phức tạp. RSM đã được sử dụng thành công cho nhiều ứng dụng công nghệ sinh học và nông nghiệp [5, 6]. Ưu điểm chính của RSM là giảm số lượng các thử nghiệm thực nghiệm cần thiết để đánh giá nhiều tham số và tương tác của chúng. Phương trình mô tả cách các biến kiểm tra ảnh hưởng đến phản ứng, xác định mối tương quan giữa các biến thử nghiệm và mô tả các hiệu ứng kết hợp của tất cả các biến thử nghiệm trong các phản ứng [5]. Với mục đích xác định các điều kiện lên men thích hợp cho quá trình lên men rượu từ mứt Thái thứ phẩm, nghiên cứu tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men, pH và tổng hàm lượng chất khô hòa tan ($^{\circ}\text{Bx}$) ban đầu trong dịch mứt thích hợp cho quá trình lên men. Các thông số tối ưu sẽ là cơ sở hỗ trợ cho quá trình thu nhận rượu mứt chưng cất qua đó góp phần đa dạng hóa sản phẩm, nâng cao giá trị nguyên liệu sẵn có và gia tăng lợi ích kinh tế cho người trồng ở địa phương.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Mứt Thái thứ phẩm (mứt xơ đen), chín đều, được mua từ huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang, được vận chuyển về Phòng thí nghiệm và tồn trữ ở nhiệt độ phòng. Nấm men Mauripan (AB Mauri Viet Nam) và đường Biên Hòa.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Quy trình lên men rượu mứt

Mứt $\rightarrow$ Xử lý $\rightarrow$ Trữ đông $\rightarrow$ Tan giá $\rightarrow$ Nghiền với nước (1:2) $\rightarrow$ Thanh trùng (NaHSO_3 , 200 ppm, 2 giờ) $\rightarrow$ Điều chỉnh Brix, pH, nấm men $\rightarrow$ Lên men $\rightarrow$ Phân tích chất lượng.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để thiết kế thí nghiệm và bố trí tối ưu hóa các nhân tố khảo sát bao gồm tỷ lệ nấm men (0,4 % đến 1,2 %, w/v), tổng chất khô hòa tan (22-30) $^{\circ}\text{Bx}$ và pH = (3,6-4,5). Thí nghiệm được thiết kế theo mô hình Box-Behnken (Bảng 1), mỗi nhân tố được mã hóa với 3 mức độ (-1;

0; +1) với tổng số nghiệm thức là 15, bao gồm 3 điểm tâm. Dịch quả mứt thu được sau khi nghiền với nước theo tỷ lệ (1:2) được điều chỉnh lần lượt về các độ Brix và pH theo bố trí thí nghiệm. Sau đó, hỗn hợp được thanh trùng bằng NaHSO_3 với nồng độ 200 mg/L trong 2 giờ. Cho hỗn hợp dung dịch đã được thanh trùng vào bình, sau đó bổ sung nấm men với các tỷ lệ được bố trí. Lên men 9 ngày ở nhiệt độ (28 ± 2) $^{\circ}\text{C}$. Tất cả các mẫu được phân tích độ rượu (%) sau khi kết thúc quá trình lên men.

Bảng 1 Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa quá trình lên men theo mô hình Box-Behnken

Biến (yếu tố)	Mức và mã hóa mức của biến		
	-1	0	+1
Tỷ lệ nấm men (%)	0,4	0,8	1,2
Độ brix ($^{\circ}\text{Bx}$)	22	26	30
pH	3,6	4,05	4,5

Trên cơ sở kết quả thực nghiệm lại mô hình, dịch mứt sau lên men được chưng cất để đánh giá chất lượng. Dịch lên men được cho vào bình cầu 2 000 mL và đun sôi. Hơi rượu được dẫn qua hệ thống làm lạnh bằng nước để thu hồi rượu. Lượng rượu được thu trong bình tam giác để trong nước đá đến khi rượu có nồng độ khoảng 29 % (đo bằng cồn kế cầm tay, AL-21 α , Atago, Japan). Sản phẩm rượu chưng cất được làm mát 20 $^{\circ}\text{C}$ để xác định thể tích và nồng độ rượu.

2.2.3 Phương pháp phân tích

Định lượng đường tổng bằng ferricyanua: với một lượng nhất định ferricyanua ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) phản ứng với đường khử, có mặt dung dịch NaOH, sản phẩm thu được là ferrocyanua. Dựa vào lượng ferricyanua đã dùng để xác định lượng đường tổng có trong nguyên liệu cần phân tích. Việc chuẩn độ được thực hiện trong môi trường kiềm, khi đun nóng với chỉ thị methylen blue [7].

Xác định hàm lượng acid tổng: vì các acid trong thực phẩm đều là acid hữu cơ (acid yếu) nên khi được trung hòa và hoàn toàn bằng kiềm mạnh (NaOH hay KOH 0,1N) với chất chỉ thị là phenolphthalein có khoảng chuyển màu ở pH = 8,2 [7].

Xác định hàm lượng tro: dùng sức nóng (550-600) $^{\circ}\text{C}$ nung cháy hoàn toàn các chất hữu cơ. Phần còn lại được cân và tính ra tỷ lệ tro (%) có trong thực phẩm. Thành phần nhiều nhất trong tro chính là các chất khoáng.

Định lượng vitamin C bằng iodine: tất cả ascorbic acid sẽ bị oxi hóa bởi iod. Phần iod còn thừa sẽ cho màu xanh tím với dung dịch tinh bột và phản ứng sẽ kết thúc [7].

Hàm lượng chất khô hòa tan ($^{\circ}\text{Brix}$): khúc xạ kế Atago 0-32 (Japan).

Đo pH: pH kế, Hana HI210-02 (Japan).

Hàm lượng cồn (% v/v): chưng cất một lượng dịch lên men để tách ethanol ra. Xác định tỷ trọng của dịch cất bằng bình tỷ trọng. Tra bảng tỷ trọng của hỗn hợp ethanol-nước để xác định hàm lượng ethanol (TCVN 5562-2009).

Hàm lượng methanol trong rượu (% v/v): cho phần mẫu thử tác dụng với thuốc thử fucsin sulfit sau khi đã oxi hóa methanol thành aldehyde formic. So màu của dung dịch với màu của dung dịch chuẩn (TCVN 8010:2009). Hàm lượng aldehyde trong rượu (mg/L cồn 100 %): Cho phần mẫu thử tác dụng với thuốc thử fucsin sulfit và rượu có hàm lượng aldehyde chuẩn. So màu của dung dịch thu được với màu của dung dịch chuẩn (TCVN 8009:2009).

Cảm quan: theo TCVN 8011:2009

Phương pháp xử lý số liệu: thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, các số liệu được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion 15.1 (Statgraphics Technologies, Inc.).

Mô hình phù hợp được chọn cho bộ dữ liệu được thu thập. Mô hình (1) được đề xuất (giá trị Y) trong trường hợp này: $Y = b_0 + b_n X_n + b_{nn} X_n^2 + b_{nm} X_n X_m + \dots$ (1) Trong đó: b_0 là hệ số; b_n , b_{nn} và b_{nm} là các hệ số bậc 1, bậc 2 của phương trình hồi quy; X_n , X_m là các giá trị của biến độc lập. Kiểm định sự tương thích của dữ liệu theo mô hình và dữ liệu thực nghiệm được thực hiện.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Đặc tính chất lượng của thịt mít Thái thứ phẩm

Tính chất của nguyên liệu là một trong những chỉ tiêu quan trọng quyết định trực tiếp đến chất lượng sản phẩm cũng như khả năng phát triển của nấm men và đặc tính của sản phẩm [8]. Do đó, việc xác định thành phần nguyên liệu là điều kiện cần thiết giúp việc điều chỉnh các thông số điều kiện ban đầu của dịch lên men để thu được sản phẩm mong muốn. Kết quả phân tích thành phần nguyên liệu được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2 Một vài chỉ tiêu hóa lý của thịt mít Thái thứ phẩm

Thành phần	Hàm lượng
Độ ẩm (%)	$73,96 \pm 2,34$
Hàm lượng đường tổng (%)	$11,32 \pm 1,01$
Hàm lượng acid tổng (%)	$0,14 \pm 0,00$
Tro (%)	$0,88 \pm 0,03$
Vitamin C (mg/100 g)	$3,50 \pm 0,13$
Brix	$18,01 \pm 1,24$
pH	$6,5 \pm 0,35$

Ghi chú: các giá trị trung bình của 3 lần lặp lại

Kết quả phân tích cho thấy nguyên liệu mít có hàm lượng đường tổng là 11,32 %, lượng vitamin C là 3,50 mg/100 g, hàm lượng ẩm là 73,96 %. Theo [9], phần ăn được của mít có độ ẩm là 73,23 %, tro 1 % và vitamin C là 6,7 mg, do đó có thể thấy độ ẩm và tro trong mít Thái thứ phẩm tương đương với phần ăn được của múi mít, hàm lượng vitamin C thì thấp hơn. Với hàm lượng chất khô hòa tan cao (18,01 $^{\circ}\text{Bx}$), đây là nguyên liệu thích hợp cho quá trình lên men rượu. Kết quả phân tích này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây lần lượt là (15,5-21,8) $^{\circ}\text{Bx}$, và (16-29,9) $^{\circ}\text{Bx}$. [10, 11].

3.2 Ảnh hưởng của các yếu tố thử nghiệm đến hàm lượng rượu sau lên men

Thiết kế Box-Behnken được thực hiện để tối ưu hóa quá trình lên men dịch mít Thái thứ phẩm và xác định mối tương tác giữa các yếu tố với nhau. Ba nhân tố được chọn trong thí nghiệm này là tỷ lệ nấm men (A), hàm lượng chất khô hòa tan (B) và pH (C) với 3 mức mã hóa (-1, 0, +1) được khảo sát mức độ ảnh hưởng đến sự hình thành ethanol (% v/v). Kết quả thí nghiệm tối ưu 3 nhân tố theo mô hình Box-Behnken được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3 Ma trận thí nghiệm và độ cồn (% v/v) được thiết kế theo mô hình Box-Behnken

Tổ hợp	Tỷ lệ men (%) A	Độ Brix B	pH C	Hàm lượng rượu (% v/v)
1	0,4	26,0	4,50	10,51
2	1,2	22,0	4,05	12,17
3	1,2	30,0	4,05	12,85
4	0,8	22,0	3,60	11,42
5	0,4	22,0	4,05	13,18

6	0,4	30,0	4,05	12,97
7	1,2	26,0	3,60	10,67
8	1,2	26,0	4,50	11,43
9	0,8	26,0	4,05	15,24
10	0,8	30,0	3,60	12,84
11	0,8	26,0	4,05	15,24
12	0,4	26,0	3,60	10,92
13	0,8	22,0	4,50	13,80
14	0,8	26,0	4,05	13,67
15	0,4	26,0	4,50	10,51

Nồng độ rượu là một trong những chỉ tiêu quan trọng nhất trong việc đánh giá khả năng lên men rượu của nấm men, chất lượng rượu cũng như điều kiện bảo quản [12]. Kết quả cho thấy, nồng độ rượu của dịch mứt lên men đạt giá trị trung bình khoảng (10,51-15,24) % v/v. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy nghiệm thức 9 (pH = 4,05, 26,0 °Bx và 0,8 % nấm men) cho hàm lượng ethanol

cao nhất (đạt 15,24 % v/v); nghiệm thức 1, nghiệm thức 15 (pH = 4,5, 26,0 °Bx và 0,4 % nấm men) cho hàm lượng ethanol thấp nhất (10,51 % v/v).

Để xác định mức độ phù hợp của mô hình thì hệ số xác định R^2 là một thước đo quan trọng [13]. Giá trị càng gần với 1 thì mối tương quan giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán càng tốt [14]. Trong mô hình này, giá trị R^2 là 92,28 % (Bảng 4). Bên cạnh chỉ số R^2 thì chỉ số R^2 hiệu chỉnh thường được sử dụng vì giá trị này phản ánh sát hơn mức độ phù hợp của mô hình hồi quy. Với giá trị R^2 hiệu chỉnh là 78,39 % thì có nghĩa là các nhân tố như độ Brix, pH, tỷ lệ nấm men giải thích được 78,39 % sự biến thiên của hàm lượng rượu và còn lại ảnh hưởng bởi các nhân tố khác ngoài mô hình cũng như sai số ngẫu nhiên. Để đánh giá hiệu quả của mô hình thì không chỉ đánh giá R^2 mà còn đánh giá R^2 điều chỉnh, R^2 dự đoán và tổng sai số dự đoán của bình phương (PRESS) [15].

Bảng 4 Bảng phân tích mối tương quan của các biến với giá trị P trong mô hình bề mặt đáp ứng của độ rượu

Biến	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
A: Tỷ lệ men	0,02645	1	0,02645	0,06	0,8234
B: Brix	0,03125	1	0,03125	0,07	0,8085
C: pH	0,66125	1	0,66125	1,38	0,2927
AB	0,198025	1	0,198025	0,41	0,5484
AC	0,342225	1	0,342225	0,72	0,4363
BC	1,97403	1	1,97403	4,13	0,0980
A ²	12,3595	1	12,3595	25,83	0,0038
B ²	0,0330314	1	0,0330314	0,07	0,8032
C ²	14,837	1	14,837	31,01	0,0026
Lack-of-fit	0,733655	2	0,366828	0,67	0,5748
Total error	2,39247	5	0,478493		
Total (corr.)	31,0084	14	$R^2 = 92,28 \%$ R^2 hiệu chỉnh = 78,39 %		

Bảng 4 cho thấy ảnh hưởng của từng biến độc lập riêng lẻ (A, B, C) là thể hiện khác biệt không ý nghĩa ($P > 0,05$), giá trị bậc hai (A^2 và C^2) thể hiện có ý nghĩa ($P < 0,05$). Hệ số xác định tương quan R^2 cao ($R^2 = 92,28 \%$) cho thấy mô hình thể hiện mức độ tương quan cao. Mô hình tương quan được đánh giá tốt khi hệ số xác định tương quan R^2 lớn hơn 0,8 [16]. Mô hình hồi quy

đa chiều mô tả mối quan hệ giữa các biến độc lập và hàm lượng rượu trong dịch mứt sau khi lên men được thiết lập theo phương trình:

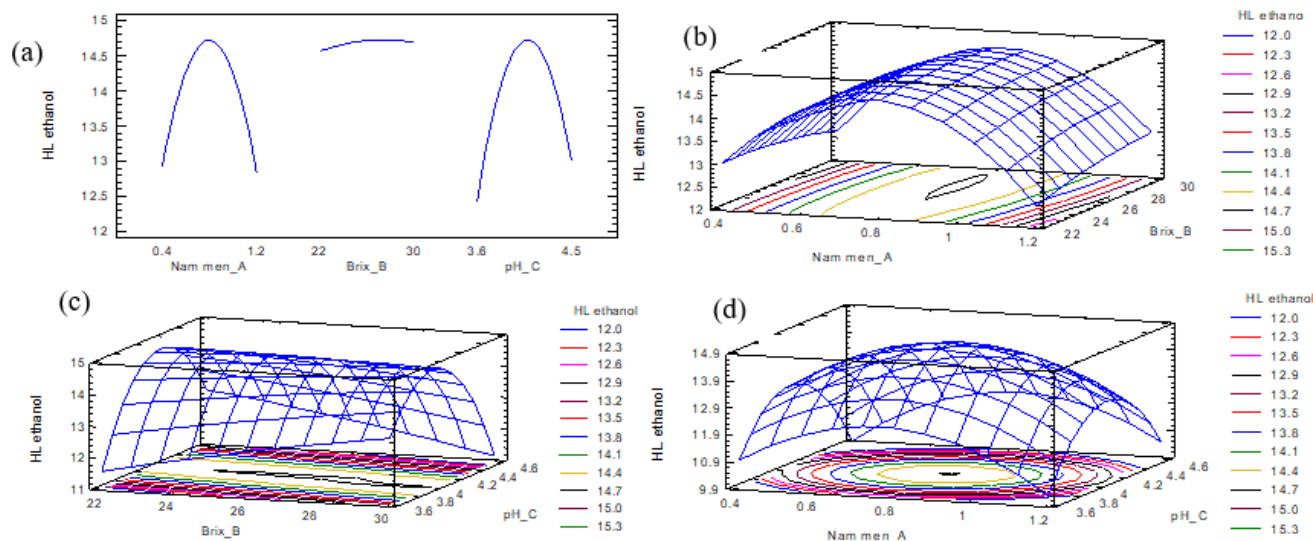
$$Y = -194,787 + 7,95521A + 1,7924B + 89,6694C - 11,4349A^2 + 0,139063AB + 1,625AC - 0,00591146B^2 - 0,390278BC - 9,89918C^2.$$

Trong đó, Y là nồng độ

còn trong dịch sau khi lên men (%), A là tỷ lệ nấm men (%), B là độ Brix ban đầu (%) và C là pH ban đầu.

Khi xét về tác động của các yếu tố thí nghiệm, đường là nguồn cơ chất để nấm men thực hiện quá trình lên men tạo thành rượu nên hàm lượng ethanol sinh ra cao hay thấp sẽ phụ thuộc vào hàm lượng đường sử dụng trong dịch lên men [17]. Do đó, độ Brix ban đầu phải phù hợp để đủ cơ chất cho sự hoạt động của nấm men. Hình 1 cho thấy, khi nồng độ đường càng tăng thì rượu tạo thành tăng. Tuy nhiên, mức tăng này đạt đến một mức độ nhất định và sau đó không tăng và giảm dần, thậm chí ngừng hẳn quá trình lên men do tạo thành áp suất thẩm thấu lớn gây phá vỡ tế bào nấm men, ảnh hưởng xấu đến hiệu quả lên men, hàm lượng đường còn lại sẽ tăng [18]. Nấm men có thể hoạt động trong dịch đường có nồng độ (25-30) %. Khi lượng cơ chất (đường) không đủ cho nhu cầu tăng sinh khối nấm men và chuyển hóa đường thành rượu, nấm men có thể chết đi do cạnh tranh dinh dưỡng lẫn nhau làm cho hàm lượng rượu sinh ra thấp [19]. Kết quả này khá tương

đồng khi nghiên cứu lên men rượu vang khóm [20]. Ở mức đường ban đầu thấp, nấm men đạt được điều kiện tối ưu cho hoạt động của chúng mà không bị ức chế do tốc độ chuyển hóa đường thành rượu rất nhanh. Ở điều kiện này, nấm men có thể chuyển hóa một cách hiệu quả và hoàn toàn lượng đường ban đầu thấp thành rượu. Do đó, rượu thu được chứa hàm lượng rượu cao và lượng đường dư không đáng kể [21]. Kết quả thực nghiệm cho thấy khi lên men trong cùng điều kiện pH và tỷ lệ nấm men, như trong trường hợp của các cặp thí nghiệm thứ 2, 3, 4 và 10 thì hàm lượng ethanol đạt được ghi nhận là khác nhau. Điều này có thể giải thích rằng, khi hàm lượng đường thấp, nấm men sẽ bị thiếu nguồn carbon cho quá trình tăng sinh khối, dẫn đến phải cạnh tranh dinh dưỡng lẫn nhau và cuối cùng là lượng rượu sinh ra thấp. Tuy nhiên, nếu tăng hàm lượng đường quá cao, nồng độ rượu cũng bị giảm vì hàm lượng đường quá cao sẽ làm tăng áp suất thẩm thấu, mất cân bằng trạng thái sinh lý và quá trình trao đổi chất của tế bào của nấm men.



Hình 1 Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của các nhân tố (a) và mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa nấm men và Brix (b), pH và Brix (c) và nấm men và pH (d) đến hàm lượng độ rượu

Bên cạnh đó, Hình 1 cũng cho thấy tại khoảng pH = 4,0 thì hàm lượng cồn sau lên men đạt cao nhất điều này có thể là do khoảng pH này là thích hợp để nấm men phát triển và tiến hành lên men rượu. pH ảnh hưởng lớn đến hoạt tính của nấm men, có khả năng làm thay đổi điện tích các chất của vỏ tế bào, làm tăng hoặc giảm mức độ thẩm thấu các chất dinh dưỡng và chiều hướng lên men

[22]. Quá trình lên men rượu nên thực hiện pH = (3,8-4,0), vì ở pH này nấm men có thể phát triển nhưng vi khuẩn và nấm men dại khác bị ức chế [18]. pH hoạt động của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là (3,5-6,0), ở khoảng pH này nấm men chuyển hoá đường theo con đường EMP, sản phẩm pyruvate tạo thành sẽ bị decarboxyl hoá cho ra acetaldehyde, chất này nhận

H^+ tạo thành ethanol [23]. Kết quả này cũng tương đồng khi lên men rượu xơ mít và khi lên men rượu vang chôm chôm Java [24, 25]. Độ pH sau lên men có thể giảm do sự hoạt động của nấm men trong quá trình lên men kỵ khí sinh ra CO_2 và một số acid hữu cơ làm giảm pH của dịch lên men [18]. Độ pH sau lên men càng thấp (3,5-3,8) cải thiện được độ ổn định của rượu, ức chế được sự phát triển của vi khuẩn và cũng tạo điều kiện tốt cho quá trình lên men đường. Ở khoảng pH = (4,2-4,5) tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển nhanh chóng và dẫn đến quá trình lên men không mong muốn, rượu vang có chất lượng kém và màu sắc xấu

Bên cạnh nguồn đường và pH thì mật độ nấm men cũng là yếu tố ảnh hưởng đến sự lên men. Nếu lượng tế bào nấm men cho vào thích hợp thì quá trình lên men diễn ra tốt, hiệu suất thu hồi cao và chất lượng sản phẩm cũng tốt hơn. Nếu lượng tế bào nấm men cho vào quá ít thì tốc độ lên men chậm, sinh khối tế bào nấm men quá nhiều thì môi trường dịch lên men không đủ cho nấm men phát triển, tế bào nấm men sẽ chết dần, sản phẩm sinh ra mùi vị lạ, đồng thời hao phí một lượng men đáng kể [18]. Bảng 3 cho thấy, khi lên men trong cùng điều kiện pH và độ Brix, ở các nghiệm thức có tỷ lệ nấm men thấp là 0,4 % và cao là 1,2 % đều cho hàm lượng rượu thấp hơn so với các nghiệm thức có tỷ lệ nấm men 0,8 %. Có thể giải thích rằng, với tỷ lệ nấm

men thấp khi vào môi trường mới cần có thời gian thích nghi để phát triển đến tỷ lệ thích hợp và thực hiện quá trình lên men. Ngược lại, tỷ lệ nấm men càng cao thì tốc độ tạo rượu càng nhanh do quá trình chuyển hóa đường thành rượu được thực hiện nhanh chóng, nhưng với lượng nấm men ban đầu quá cao cũng làm tổn thất nguồn carbon, dẫn đến hàm lượng rượu không những không tăng mà còn giảm [17]. Với tỷ lệ nấm men ban đầu quá cao, sẽ gây ra sự cạnh tranh về dinh dưỡng trong môi trường dịch quả lên men và nồng độ chất khô hòa tan dùng cho tổng hợp ethanol ít, tế bào nấm men sẽ chết dần [24].

3.3 Kiểm định giá trị tối ưu và thực nghiệm

Đồ thị bề mặt đáp ứng (Hình 1b, Hình 1c và Hình 1d) thể hiện sự tương quan giữa các yếu tố đến hàm lượng cồn. Đồ thị bề mặt đáp ứng cho thấy hàm lượng ethanol tăng khi độ Brix tăng từ (22-26) °Bx thì đạt giá trị cực đại và sau đó giảm khi Brix tiếp tục tăng đến 30 °Bx. Tương tự, hàm lượng ethanol cũng tăng khi tỷ lệ tế bào nấm men tăng và đạt giá trị cực đại ở tỷ lệ khoảng 0,8 %, sau đó lại giảm khi tỷ lệ nấm men tăng đến 1,2 %. Thử nghiệm được thực hiện với các thông số tối ưu được đề xuất sau khi dữ liệu thí nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI. Dịch mứt Thái thứ phẩm được điều chỉnh để tiến hành thực nghiệm kiểm chứng theo Bảng 5.

Bảng 5 Bảng tối ưu hóa các nhân tố ảnh hưởng đến độ cồn

Nhân tố	Thấp	Cao	Tối ưu	Hàm lượng ethanol (% v/v)	
				Lý thuyết	Thực nghiệm
Tỷ lệ nấm men (A)	0,4	1,2	0,799	15,24	15,31
Độ Brix (B)	22,0	30,0	26,712		
pH ©	3,6	4,5	4,062		

Bảng 5 cho thấy để rượu đạt được độ cồn cao nhất (15,24 % v/v) thì tỷ lệ nấm men, nồng độ chất khô và pH lần lượt là 0,8 %, 26,71 và 4,06. Kiểm định T-test được thực hiện cho thấy không có sự khác biệt ý nghĩa giữa các giá trị tối ưu lý thuyết (15,24 % v/v) và thực nghiệm (15,31 % v/v). Kết quả thu được thấp hơn khi lên men dịch măng cầu xiêm khi sử dụng kết hợp *Pleurotus pulmonarius* và *S. cerevisiae* và tối ưu hóa 4 yếu tố gồm pH, nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ nuôi cấy với các giá trị lần lượt là pH 4,99, 28,29 °C, 131 giờ và 0,42

% (42:58 *P. pulmonarius mycelia* và *S. cerevisiae*) cho nồng độ rượu đạt 22,29 % (v/v) [27]. Kết quả này cao hơn khi lên men rượu vang khóm có số lượng tế bào nấm men 10^3 CFU/mL, hàm lượng chất khô hoà tan 24 °Bx và pH = 4, hàm lượng ethanol thu được đạt 13,67 % (v/v) sau 12 ngày lên men [26].

3.4 Đánh giá chất lượng rượu mứt sau chưng cất

Dịch mứt sau khi được lên men được chưng cất trong bình cầu có dung tích 2 000 mL để thu sản phẩm rượu, trong quá trình chưng cất, sản phẩm rượu được loại bỏ

phần rượu đầu và rượu cuối. Tỷ lệ rượu đầu và cuối được loại bỏ là 10 % và 20 % so với dung tích rượu được sử dụng để chưng cất. Thực hiện đánh giá cảm

quan rượu thành phẩm theo TCVN 3217-79. Hội đồng đánh giá gồm 15 thành viên với kết quả đánh giá được thể hiện ở Bảng 6.

Bảng 6 Chất lượng rượu mít sau chưng cất

Chỉ tiêu chất lượng		Giới hạn cho phép		Kết quả
Hàm lượng ethanol (% v/v)		-		28,04
Hàm lượng methanol (mg/L)		< 100 mg/L		17,19
Hàm lượng aldehyde (mg/L)		< 50 mg/L		36,60
Chỉ tiêu cảm quan	Điểm trung bình chưa có trọng lượng	Hệ số quan trọng	Điểm trung bình có trọng lượng	Mô tả: chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ nhỏ, màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm; mùi hòa hợp, thơm đặc trưng của sản phẩm; vị hòa hợp, êm dịu, hậu vừa phải, đặc trưng cho sản phẩm bình thường.
Độ trong và màu sắc	4,71	0,8	3,80	
Mùi	4,14	1,2	5,00	
Vị	4,14	2,0	8,28	
Tổng điểm			17,08	

Bảng 6 cho thấy hàm lượng methanol được ghi nhận rất thấp (17,19 mg/L) và đạt tiêu chuẩn cho phép theo TCVN 7043:2013 và QCVN 6-3:2010/BYT (< 100 mg/L). Bên cạnh đó, aldehyde là một trong các chỉ tiêu quan trọng trong rượu trắng và trong thực tế sản xuất thì aldehyde thường vượt quá quy định (50 mg/L) nếu chưng cất không phù hợp. Hàm lượng aldehyde tổng số được tính bằng tổng của aldehyde dạng tự do và aldehyde dạng bảo vệ (hemiacetal và acetal) - sản phẩm của phản ứng thuận nghịch giữa aldehyde liên kết với alcohol trong rượu. Hàm lượng aldehyde được ghi nhận trong điều kiện thí nghiệm là 36,60 mg/L và đáp ứng được quy định cho phép của sản phẩm rượu qua chưng cất theo TCVN 7043:2002 (< 50 mg/L). Điểm trung bình có trọng lượng của rượu mít chưng cất là 17,08. Theo TCVN 3217-79 thì sản phẩm đạt chất lượng khá. Như vậy, với tỷ lệ loại bỏ rượu đầu là 10 % theo điều kiện thí nghiệm này đối rượu mít chưng

cất thì sản phẩm đạt chất lượng cảm quan cao và đạt tiêu chuẩn theo TCVN 7043:2002 (rượu trắng – Quy định kỹ thuật).

4 Kết luận

Phương pháp bề mặt đáp ứng theo mô hình Box-Behnken đã xác định được các thông số tối ưu (pH = 4,062, nồng độ chất khô ban đầu là 26,712 °Bx và tỷ lệ nấm men 0,799 %) cho quá trình lên men tạo ra dịch lên men có nồng độ cồn là 15,37 % trong thời gian lên men là 9 ngày ở nhiệt độ phòng. Dịch mít sau lên men được chưng cất (loại bỏ tỷ lệ rượu đầu là 10 % và 20 % rượu cuối) thu sản phẩm rượu cất có hàm lượng ethanol 28,04 %. Trong sản phẩm rượu sau chưng cất, các chỉ tiêu về hàm lượng aldehyde và methanol đều đạt chất lượng theo TCVN 7043:2013, QCVN 6-3:2010/BYT và TCVN 7043:2002.

Tài liệu tham khảo

1. Hossain M. T.(2014). Development and quality evaluation of bread supplemented with jackfruit seed flour. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3 (5), 484-487.
2. Shamsudin, R., C.S. Ling, C.N. Ling, N. Muda and O. Hassan. (2009). Chemical compositions of the jackfruit juice (*Artocarpus*) cultivar J33 during storage. *Journal of Applied Sciences*, 9(17): 3202-3204.
3. Đặng Như Tại, Trần Quốc Sơn (1999). *Hóa học hữu cơ*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
4. Jacques K.A, Lyons T.P, Kelsal D. R. (2003). *The Alcohol Textbook-A Reference for the Beverage, Fuel and Industrial Alcohol Industrie*. Nottingham University Press. Nottingham, UK.
5. Giovanni M (1983). Response surface methodology and product optimization. *Food Tech*, 37(11): 41-45.
6. Popa O, Babeanu N, Vamanu A, Vamanu E. (2007). The utilization of the response surface methodology for the optimization of cultivation medium and growth parameters in the cultivation of the yeast strain *S. cerevisiae* 3.20 on ethanol. *African Journal of Biotechnology*, Vol 6 (23): 2700-2707.
7. Nguyễn Văn Mùi (2001). *Thực hành hóa sinh học*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
8. Phan Tại Huân. (2019). Optimization of alcoholic fermentation of custard apple juice by *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology. *The Journal of Agriculture and Development*, 18(5), 70-78.
9. USDA. (2006). *National Nutrient Database for Standard Reference*. Release 19
10. Lê Trí Nhân, Trần Thị Doãn Xuân và cộng sự. (2016). Đặc điểm ra hoa, phát triển trái và thời điểm xuất hiện hiện tượng đen xơ mít Thái siêu sớm (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) tại quận Cái Răng, thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 3, tr.79-87.
11. Avani Pebbuli and F.K. Bauri. (2018). Assessment of different quality characters of twenty jackfruit genotypes under new alluvial zone of West Bengal. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.*, Vol 7, No 12, p 2621-2626.
12. Nguyễn Minh Thủy, Bùi Thanh Trúc, Nguyễn Thành Thư, & Ngô Văn Tài. (2019). Tối ưu hóa điều kiện lên men rượu vang thanh trà sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 15(5,6), 43-49.
13. Osório, N. M., Ferreira-Dias, S., Gusmão, J. H., & Da Fonseca, M. M. R. (2001). Response surface modeling of the production of ω -3 polyunsaturated fatty acids-enriched fats by a commercial immobilized lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11(4-6), 677-686.
14. Liu, J. Z., Weng, L. P., Zhang, Q. L., Xu, H., & Ji, L. N. (2003). Optimization of glucose oxidase production by *Aspergillus niger* in a benchtop bioreactor using response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(3), 317-323.
15. Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2016). *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. John Wiley & Sons.
16. Guan, X. and Yao, H. (2008). Optimization of viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106(1): 345-351.
17. Phong, H. X., Kiet, H. Van, Hung, L. T., Ai, T. K., & Chau, L. M. (2021). Tối ưu hóa điều kiện lên men rượu vang măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* FBY015. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 226(05), 95-103.
18. Lương Đức Phẩm. (2006). *Nấm men công nghiệp*. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
19. Nguyễn Đình Thường, Nguyễn Thanh Hằng. (2007). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn ethylic*. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

20. Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế và Nguyễn Thị Mỹ Tuyền. (2013). Phân lập, tuyển chọn và định danh nấm men trong lên men rượu vang khóm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 25:27-35.
21. Dimero, F. N., & Tepora, T. F. (2018). Processing and Development of Dragon Fruit Wine. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(5), 1943-1947.
22. M. E. Pampulha and M. C. Loureiro-Dias. (2007). Combined effect of acetic acid, pH and ethanol on intracellular pH of fermenting yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 31(5) 547-550, 1989.
23. Trần Thị Ngọc Mai. (2020). Nghiên cứu chế biến nước giải khát lên men từ quả sơ ri (Vol. 19, Issue 2020, p. 99-105
24. Ngọc, T. T. Á., Ngọc, B. T. Á., Ngọc, N. T. M., & Quang, N. M. (2018). Ảnh hưởng của pH và chất khô hòa tan đến quá trình lên men rượu từ xơ mít (*Artocarpus heterophyllus*) giống Thái Lan. *Can Tho University, Journal of Science*, 54, 211-218.
25. Nguyễn Thị Thanh Hồng. (2013). Phân lập và tuyển chọn nấm men tự nhiên lên men rượu vang chôm chôm Java (*Nephelium lappaceum*). Luận văn Cao học. *Trường Đại học Cần Thơ*.
26. C. W. Ho, A. Lazim, S. Fazry, U. K. H. Zaki, H. Massa, and S. J. Lim. (2019). Alcoholic fermentation of soursop (*Annona muricata*) juice via an alternative fermentation technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 100, No. 3, p. 1012-1021
27. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Phú Cường, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền và Nguyễn Hữu Phước. (2011). Biện pháp làm trong và ổn định sản phẩm rượu vang khóm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 18b:73-82

Research on processing distilled wine from Thai Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) by – product

Nguyen Van Ngoc Phuong*, Nguyen Tan Hung

Tien Giang University, Tien Giang Province, Viet Nam

*nguyenvannhocphuong@tgu.edu.vn

Abstract Juice from Thai jackfruit by-products contains high minerals, vitamins and sugar content that are suitable for wine fermentation. This study investigated the effects of yeast ratio (0,4-1,2% w/v), Brix degree (22-30) and pH = (3,6-4,5) on the alcohol content of jackfruit wine. The experiments were carried out according to the Box-Behnken design to establish the optimum conditions for the main fermentation process of jackfruit wine. The quality of fermented jackfruit juice was evaluated based on the concentrations of ethanol, aldehyde, methanol and sensory attributes under laboratory conditions. The results showed that ethanol content of jackfruit wine reached 15,31 % v/v after 9 days of fermentation under the appropriate conditions, including 26,70 °Bx, pH = 4,06 and yeast ratio of 0,799 %. The quality of distilled jackfruit wine (methanol, aldehyde) has met the Vietnamese Standard (TCVN 7045: 2013) and good sensory values (aroma and taste). The results of this study showed that the utilization of secondary Thai jackfruit, black spot jackfruit are used as alcohol fermentation materials to create value-added products as well as contribute to product diversification and valuable economic enhancement for jackfruit products.

Keywords Optimal conditions, wine fermentation, jackfruit, jack fruit wine.



Phân lập và xác định đặc điểm các dòng nấm men từ men rượu trên địa bàn thành phố Cần Thơ

Huỳnh Quốc Huy^{1*}, Nguyễn Thị Mỹ Trinh¹, Trần Thị Như Ngọc¹, Lưu Minh Châu¹,
Nguyễn Ngọc Thạnh¹, Đoàn Thị Kiều Tiên², Huỳnh Xuân Phong^{1,**}

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Công nghệ Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

*huym0522003@gstudent.ctu.edu.vn, **hxphong@ctu.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập các dòng nấm men từ các mẫu men rượu trên địa bàn thành phố Cần Thơ và xác định một số đặc điểm của các dòng nấm men được phân lập như khả năng chịu cồn, khả năng chịu nhiệt, khả năng kết lắng và khả năng sinh H₂S. Từ đó có thể lưu trữ được nguồn nấm men thuần dòng để ứng dụng vào quá trình lên men rượu gạo tại địa phương. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 12 dòng nấm men từ 5 mẫu men rượu. Khi đánh giá hoạt tính chịu cồn, các dòng nấm men này đều chịu được nồng độ cồn ở mức 8 % v/v, trong đó có 10 dòng chịu được nồng độ cồn ở mức 12 % v/v. Tất cả dòng nấm men phân lập được đều có khả năng phát triển ở nhiệt độ 30 °C và 37 °C, 8 dòng có khả năng phát triển ở nhiệt độ 40 °C và 3 dòng có khả năng phát triển ở nhiệt độ 45 °C. Ngoài ra, 12 dòng nấm men phân lập được đều không sinh H₂S và có khả năng kết lắng tốt.

Nhận 04/09/2024
Được duyệt 12/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
chịu cồn, chịu nhiệt,
lên men ethanol,
men rượu, nấm men

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Rượu được sử dụng như là một nét văn hóa của người Việt đã có từ lâu đời, mang đậm dấu ấn truyền thống, gắn với những tập tục sinh hoạt của cộng đồng. Mỗi vùng miền, tộc người có cách lên men rượu khác nhau, mang bản sắc riêng của từng dân tộc, trong đó phổ biến nhất có thể kể đến đó là rượu gạo. Từ xưa, quá trình sản xuất rượu thường dựa vào hệ vi sinh vật bên ngoài môi trường để ủ và cho lên men tự nhiên. Tuy nhiên, phương pháp này thường cho kết quả không ổn định. Bằng nhiều kinh nghiệm, người ta đã chọn khối ủ tốt nhất và giữ lại một phần để sản xuất cho mẻ sau. Mặc dù phương pháp này ổn định hơn so với việc phụ thuộc vào hệ vi sinh vật tự nhiên, nguồn giống không thể bảo

quản được lâu. Do đó, bánh men đã được tạo ra từ những khối ủ tốt nhất, bằng cách tạo hình chúng với cơ chất, sấy khô và bảo quản để sử dụng dần. Bánh men rượu thường chứa các vi sinh vật như nấm men, nấm mốc và các vi khuẩn khác, có khả năng chuyển hóa đường thành cồn và các sản phẩm phụ khác.

Quá trình sản xuất rượu gạo có thể được thực hiện bằng cách nghiền bánh men thành bột và được trộn vào gạo nấu chín, ủ hiếu khí (1-2) ngày. Sau đó, thêm nước vào và thực hiện quá trình lên men kỵ khí khoảng (3-4) ngày. Sau khi kết thúc quá trình lên men, toàn bộ nguyên liệu lên men được chưng cất để thu sản phẩm. Chất lượng bánh men rượu là một trong những yếu tố quyết định đến sản lượng, chất lượng cũng như đặc

trung của sản phẩm rượu. Do đó, việc sử dụng nguồn giống vi sinh vật thuần dòng có hoạt tính cao và có tính ổn định trong quá trình lên men rượu là rất cần thiết [1]. Chính vì tầm quan trọng của bánh men trong quy trình sản xuất rượu, một số nghiên cứu đã được thực hiện để nâng cao chất lượng của bánh men cũng như chất lượng của rượu làng nghề. Kết quả nghiên cứu quy trình sản xuất men riêng tại phường Quảng Long, thị xã Ba Đồn tỉnh Quảng Bình và kết quả cho thấy rượu thành phẩm có chất lượng tốt hơn so với men truyền thống tại thị trấn Quán Hàu [2]. Trong nghiên cứu phân lập và đánh giá hoạt tính của các dòng nấm men, nấm mốc trong các loại bánh men của các làng nghề sản xuất rượu tại các huyện Hoàng Su Phì và Quản Bạ (tỉnh Hà Giang) đã tuyển chọn được nấm mốc *Aspergillus niger* NLN.218 và nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 có hiệu suất lên men đạt 93,07 % ở nồng độ đường 18,14 %, độ cồn đạt 11,2 % v/v. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, tất cả các mẫu thử nghiệm có điểm cảm quan thị hiếu cao hơn mẫu đối chứng được sản xuất từ loại bánh men truyền thống [3].

Nấm men là vi sinh vật điển hình trong việc lên men chuyển hóa đường thành rượu. Bên cạnh khả năng này, trong sản xuất rượu, người ta còn quan tâm đến một số hoạt tính khác của nấm men như khả năng chịu nhiệt, cồn, khả năng kết lắng và sinh H_2S . Hiện nay, hiệu ứng nhà kính đang làm cho trái đất ấm dần lên và nhiệt độ vẫn tiếp tục tăng dần trong tương lai. Việt Nam có khí hậu nhiệt đới gió mùa, nhiệt độ tăng khá cao vào mùa khô, càng gây khó khăn trong việc sản xuất ethanol bằng nấm men do quá trình lên men thường diễn ra tốt trong khoảng (28-33) °C. Việc sử dụng nấm men chịu nhiệt độ cao có thể giúp cho quá trình lên men diễn ra nhanh, nguy cơ nhiễm vi sinh vật giảm, giảm nồng độ oxy, chất khí khác,..., [4] và giảm được chi phí đầu tư cho thiết bị làm mát, mang lại lợi ích kinh tế [5]. Ngoài ra, nồng độ cồn trong môi trường cũng tác động đáng kể đến hoạt động của nấm men, nấm men không chịu được nồng độ cồn cao sẽ dễ bị ức chế trong quá trình lên men dẫn đến hiệu quả lên men không cao. Hơn nữa, nấm men có khả năng kết lắng sẽ là một lợi thế trong quá trình sản xuất rượu, giúp làm trong sản phẩm và nâng cao chất lượng sản phẩm cuối cùng. Cuối cùng,

cần kiểm tra đặc tính sinh H_2S của nấm men để tránh gây mùi không mong muốn trong rượu.

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm phân lập và tuyển chọn nấm men từ men rượu có khả năng chịu nhiệt, chịu cồn, lắng tốt và không sinh H_2S để ứng dụng trong lên men và sản xuất rượu nhằm tăng hiệu suất lên men, nâng cao chất lượng sản phẩm, cũng như lưu trữ nguồn gen tốt của bản địa, góp phần làm phong phú thêm sự hiểu biết về đa dạng sinh học.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu và hóa chất

Năm mẫu men rượu được thu thập tại các cơ sở sản xuất rượu tại huyện Phong Điền và quận Ninh Kiều (thành phố Cần Thơ). Các cơ sở thu mẫu bao gồm: cơ sở cô Màng (CM, khu dân cư 91B, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều); cơ sở Mươi Lược (ML, ấp Thới Giai, xã Giai Xuân, huyện Phong Điền); cơ sở Út Bình (UB, ấp Thới Giai, xã Giai Xuân, huyện Phong Điền); cơ sở Tư Vũ (TV, ấp Tân Long B, huyện Phong Điền); cơ sở cô Ba (CB, đường Nguyễn Văn Cừ, phường Cái Khế, quận Ninh Kiều).

Hóa chất: môi trường sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: môi trường YPD (yeast extract 0,5 % - peptone 0,5 % - D-glucose 2 %), môi trường Sabouraud, môi trường LA (lead acetate 0,1%, ammonium sulfate 0,02 %, yeast extract 0,5 %, peptone 0,3 %, glucose 4 %). Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp từ công ty Himedia (India) và Xilong Scientific (China).

2.2 Phương pháp

2.2.1 Phân lập và xác định hình thái của các dòng nấm men từ men rượu

Cho 5 g mẫu men rượu vào bình tam giác có chứa 95 mL môi trường YPD. Ủ lắc ở nhiệt độ phòng (28-32) °C trong (24-48) giờ. Dịch tăng sinh được pha loãng đến nồng độ thích hợp. Sau đó, 0,1 mL dịch pha loãng được trải trên môi trường thạch YPD và ủ ở 30 °C trong (24-48) giờ. Thực hiện cấy chuyển nhiều lần đến khi thu được các dòng nấm men thuần. Ghi nhận đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của các dòng nấm men được phân lập.

2.2.2 Khảo sát khả năng chịu cồn của nấm men

Các dòng nấm men được phân lập sẽ được nuôi cấy trong 10 mL môi trường YPD có chứa (8, 12, 16, và 20) % v/v ethanol tinh khiết và ủ ở 30 °C trong (48-72) giờ. Sau đó cấy lên môi trường YPD agar và ủ ở nhiệt độ 30 °C trong (48-72) giờ. Nếu nấm men phát triển trên môi trường YPD agar chứng tỏ có khả năng chịu được nồng độ cồn thử nghiệm [6].

2.2.3 Khảo sát khả năng chịu nhiệt của nấm men

Các dòng nấm men được phân lập sẽ được cấy trên môi trường YPD agar và ủ ở các nhiệt độ khác nhau gồm (30, 37, 40 và 45) °C. Quan sát sự phát triển của nấm men từ 24 giờ đến 96 giờ. Nếu nấm men phát triển trên môi trường YPD agar chứng tỏ có khả năng phát triển ở nhiệt độ thử nghiệm [7].

2.2.4 Khảo sát khả năng kết lắng của nấm men

Các dòng nấm men được phân lập sẽ được nuôi cấy trong 10 mL môi trường Sabouraud được điều chỉnh 18 °Bx bằng đường saccharose và ủ ở 30 °C trong 72 giờ. Sau đó, ống nghiệm lấy ra được lắc đều, rồi bắt đầu đo chiều cao đoạn lắng trong ở các ống nghiệm mỗi ngày. Nếu nấm men có khả năng lắng tốt thì trong 7 ngày sau khi lên men, chiều dài đoạn dịch trong > 75 % chiều cao của khối môi trường lên men. Nấm men có khả năng lắng trung bình, chiều dài đoạn dung dịch trong chiếm (50-75) % chiều cao của khối môi trường lên men. Nấm men có khả năng lắng yếu, chiều dài đoạn dịch trong chiếm (25-50) % chiều cao của khối môi trường lên men, nếu chiều dài đoạn dịch trong nhỏ 25 % chiều cao của khối môi trường lên men, thì nấm men không lắng [8].

2.2.5 Khảo sát khả năng sinh hydrogen sulfide (H₂S) của nấm men

Các dòng nấm men được phân lập sẽ được cấy trên môi trường LA agar và ủ ở 30 °C trong 10 ngày. Nếu nấm men không sinh H₂S thì khuẩn lạc phát triển không biến đổi màu, nấm men sinh H₂S ít thì rìa của khuẩn lạc có màu nâu nhạt hoặc màu nâu đen, nấm men sinh nhiều H₂S toàn bộ khuẩn lạc sẽ có màu đen [8].

2.2.6 Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, USA). Số liệu được xử lý và phân tích thống kê bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XV (Statpoint

Technologies Inc., USA), khác biệt có ý nghĩa tại giá trị $p < 0,05$.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả phân lập và xác định hình thái của các dòng nấm men từ men rượu

Trong nghiên cứu này, từ 5 mẫu men rượu khác nhau được thu thập tại 5 cơ sở trên địa bàn thành phố Cần Thơ, tổng cộng 12 chủng nấm men đã được phân lập và kết quả một số đặc điểm hình thái được thể hiện trong Bảng 1. Kết quả cho thấy 12 chủng nấm men thuần đã được phân lập và chia thành 4 nhóm hình dạng tế bào khác nhau, bao gồm hình cầu lớn, cầu nhỏ, oval lớn và oval nhỏ. Tế bào nấm men có các hình dạng phổ biến như hình cầu, hình oval, hình elip, hình trụ và đôi khi kéo dài thành hình sợi. Nấm men có thể thay đổi hình dạng và kích thước tùy thuộc vào giai đoạn phát triển và điều kiện môi trường. Điều này cho thấy sự đa dạng về hình dạng tế bào của các dòng nấm men phân lập từ men rượu. Khi phân lập trên môi trường YPD, khuẩn lạc nấm men đều có hình tròn đều, bề mặt trơn láng hoặc xù xì, bìa nguyên hoặc bìa răng cưa, với màu sắc chủ yếu là trắng sữa hoặc trắng trong. Quan sát dưới kính hiển vi cho thấy tất cả các dòng nấm men này đều nảy chồi theo một hướng.

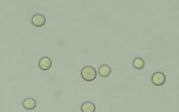
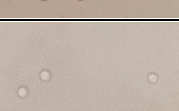
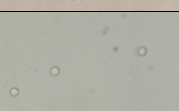
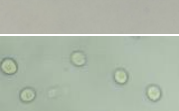
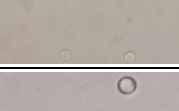
Nghiên cứu trước đây đã tiến hành phân lập các chủng nấm men từ 12 mẫu bánh men và kết quả đã xác định được các loài như *S. cerevisiae*, *Hyphopichia burtonii*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Pichia anomala* và *Candida* sp. dựa vào đặc tính hình thái và sinh lý [9]. Đến năm 2007, trong một nghiên cứu về các loại bánh men ở Việt Nam đã phân lập 119 chủng vi sinh vật từ 29 mẫu bánh men của Việt Nam, bao gồm 53 chủng nấm mốc, 51 chủng nấm men và 15 chủng vi khuẩn. Nghiên cứu đã xác định các dòng này bằng cách giải trình tự, cụ thể gồm *Amylomyces rouxii*, *Amylomyces* aff. *rouxii*, *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *S. cerevisiae*, *C. glabrata* và *P. anomala* [10]. Bên cạnh đó, các dòng nấm men cũng được tìm thấy trong loog-pang-lao (men rượu có nguồn gốc từ Thái Lan) như *P. anomala*, *P. burtonii*, *P. fabianii*, *P. heimii*, *S. cerevisiae*, *S. fibuligera*, *C. rhagii*, *C. glabrata*, *Torulaspora globosa*, *T. delbrueckii*, *Trichosporon asahii*, *Issatchenkia orientalis*, *Rhodotorula philyla*

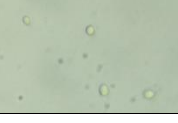
[11]. Các chủng nấm men được xác định hiện diện trong “hamei”, một loại men khởi động thực hiện quá trình lên men rượu từ gạo nếp của các gia đình tại các làng bộ lạc của Manipur (Ấn Độ) bao gồm *S. cerevisiae*, *P. anomala*, *Trichosporon* sp., *C. tropicalis*, *P. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *T. delbrueckii*, *P. fabianii* và *C. montana* [12]. Một loại men rượu khác của Ấn Độ dùng trong lên men, được gọi là “xaj-pitha”, đã cho thấy sự đa dạng vi sinh vật của cộng đồng vi sinh vật thông qua phương pháp metagenomics đã tìm thấy sự tồn tại nhóm sản xuất ethanol gồm *Meyerozyma*

guilliermondii, *Wickerhamomyces ciferrii*, *S. cerevisiae*, *C. glabrata*, *Debaryomyces hansenii*, *Ogataea parapolymorpha* và *Dekkera bruxellensis* [13].

Nhìn chung, từ kết quả của nghiên cứu này và các nghiên cứu trước đây cho thấy sự đa dạng về vi sinh vật hiện diện trong các “men khởi động” nói chung và bánh men nói riêng. Tuy nhiên, để lưu trữ các nguồn gen có các đặc tính tốt thì việc phân lập là điều cần thiết và tạo tiền đề trong việc chọn lọc những dòng vi sinh nhằm định hướng ứng dụng cho hiệu quả sản xuất cao.

Bảng 1 Đặc điểm của các chủng nấm men được phân lập từ men rượu

Mẫu men rượu	Chủng nấm men	Đặc điểm khuẩn lạc	Đặc điểm tế bào	Hình ảnh tế bào nấm men (ở vật kính 40×)
Cô Màng	CM1	Tròn, màu trắng sữa, bề mặt khô, bìa nguyên	Cầu lớn, nảy chồi một hướng	
	CM2	Tròn, nhô, màu trắng sữa, bề mặt khô, bìa nguyên	Oval lớn, nảy chồi một hướng	
Mười Lức	ML1	Tròn, màu trắng đục, bề mặt ướt trơn láng, bìa nguyên	Cầu lớn, nảy chồi một hướng	
	ML2	Tròn, màu trắng trong, bề mặt khô, bìa nguyên	Oval nhỏ, nảy chồi một hướng	
Út Bình	UB1	Tròn, màu trắng trong, bề mặt xù xì, bìa nguyên	Cầu nhỏ, nảy chồi một hướng	
	UB2	Tròn, màu trắng sữa, bề mặt khô, bìa nguyên	Oval lớn, nảy chồi một hướng	
	UB3	Tròn, màu trắng đục, bề mặt trơn láng, bìa nguyên	Oval nhỏ, nảy chồi một hướng	
Tư Vũ	TV1	Tròn, màu trắng sữa, bề mặt trơn láng, bìa nguyên	Cầu lớn, nảy chồi một hướng	
	TV2	Tròn, màu trắng đục, bề mặt xù xì, bìa nguyên	Oval lớn, nảy chồi một hướng	

	TV3	Tròn, màu trắng trong, bề mặt khô, bìa nguyên	Oval nhỏ, nảy chồi một hướng		
Cô Ba	CB1	Tròn, màu trắng trong, bề mặt trơn láng, bìa nguyên	Cầu lớn, nảy chồi một hướng		
	CB2	Tròn, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa nguyên	Oval lớn, nảy chồi một hướng		

3.2 Kết quả đánh giá khả năng chịu cồn của các dòng nấm men phân lập từ men rượu

Khả năng chịu cồn của nấm men quyết định xem chúng có thể tiếp tục phát triển và lên men hiệu quả khi nồng độ cồn trong môi trường tăng cao. Nếu nấm men không chịu được nồng độ cồn cao, quá trình lên men có thể bị dừng lại trước khi hoàn tất, dẫn đến sản phẩm không đạt được nồng độ cồn mong muốn. Chính vì vậy, trong thí nghiệm này tiến hành khảo sát khả năng chịu cồn của 12 dòng nấm men đã phân lập và kết quả được trình bày ở Bảng 2.

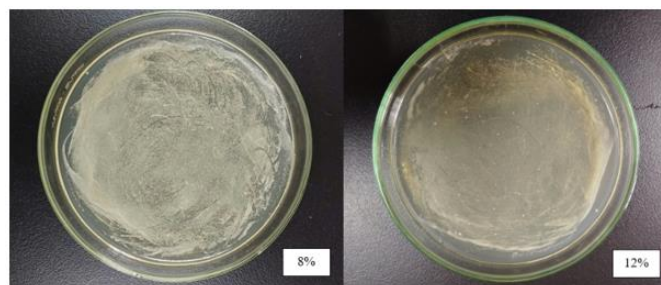
Bảng 2 Khả năng chịu ethanol (% v/v) của các dòng nấm men phân lập

Tên cơ sở	Dòng nấm men	Hàm lượng ethanol (% v/v)				Đặc điểm tế bào
		8	12	16	20	
Cô Màng	CM1	++++	+++	-	-	Hình cầu lớn
	CM2	++++	+++	-	-	Hình oval lớn
Mười Lực	ML1	++++	-	-	-	Hình cầu lớn
	ML2	++++	+++	-	-	Hình oval nhỏ
Út Bình	UB1	++++	+++	-	-	Hình oval lớn
	UB2	++++	+++	-	-	Hình cầu nhỏ
	UB3	++++	+++	-	-	Hình oval nhỏ
Tư Vũ	TV1	++++	+++	-	-	Hình oval nhỏ
	TV2	++++	+++	-	-	Hình oval lớn
	TV3	++++	-	-	-	Hình cầu lớn
Cô Ba	CB1	++++	++	-	-	Hình cầu lớn
	CB2	++++	+++	-	-	Hình oval lớn

Chú thích: Sinh trưởng rất nhiều: +++++, Sinh trưởng nhiều: +++, Sinh trưởng ít: ++, Có sinh trưởng: +, Không sinh trưởng: -

Một trong các phương pháp xác định khả năng chịu cồn của nấm men là theo dõi sự phát triển của nấm men trong môi trường có chứa các nồng độ cồn khác nhau. Nấm men chịu được cồn ở một nồng độ nào đó có nghĩa là nó có thể duy trì hoạt động trao đổi chất trong môi trường lên men và chịu được tới nồng độ cồn đó trong giai đoạn lên men. Kết quả thí nghiệm cho thấy, ở độ cồn 8 % v/v, tất cả các dòng nấm men đều sinh trưởng và phát triển bình thường. Ở nồng độ cồn cao hơn thì các dòng nấm men bắt đầu có sự phân hóa về khả năng chịu cồn, theo đó ở nồng độ cồn 12 % thì có 10 dòng sinh trưởng được ở nồng độ này. Không có dòng nấm

men nào sinh trưởng được ở mức nồng độ cồn (16 và 20) % v/v.



Hình 1 Chủng nấm men chịu cồn CM1 phát triển trên môi trường thạch YPD

Báo cáo trong một nghiên cứu về dòng nấm men *S. cerevisiae* phân lập từ Toddy (rượu cọ) có thể chịu được tới 15 % cồn trong môi trường [14]. Tuy nhiên, trong một báo cáo kết quả khác cho thấy *S. cerevisiae* phân lập từ rượu cọ chỉ chịu tới 8 % cồn [15]. Ngoài ra, các dòng *S. cerevisiae* (KY1 & KY3) có khả năng chịu được tới 15 % cồn và có một dòng *S. cerevisiae* (KY2) chịu được tới 20 % cồn đã dẫn đến sản xuất ethanol tối đa khi kéo dài thời gian lên men [16]. Mỗi giống nấm men có khả năng chịu được nồng độ rượu khác nhau, có giống chịu được cồn ở nồng độ thấp như *Hansenula* spp., *Anomala* spp. và một số men đại chỉ chịu được 3 % nhưng hầu hết các loài *S. cerevisiae* được báo cáo đều chịu được nồng độ cồn cao ở nhiệt độ tăng trưởng bình thường (30 °C), các dòng nấm men này có thể chịu được (9-12) % cồn và lên men đạt tới (14-16) % [17]. Màng tế bào của nấm men là cơ quan đầu tiên tiếp xúc với cồn, các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng sự thay đổi hàm lượng của các thành phần màng như acid béo không bão hòa có thể được xác định để suy ra tính lưu động của màng dưới áp lực của cồn và do đó ảnh hưởng đến khả năng dung nạp của tế bào [18].

Hơn nữa, khả năng chịu cồn của nấm men còn phụ thuộc vào nhiệt độ. Trong thử nghiệm ở nhiệt độ cao về

khả năng chịu cồn, *S. cerevisiae* phân lập từ trái cây được ghi nhận là chịu được nồng độ cồn cao lên tới 13 % ở 35 °C [19]. Nhìn chung, việc sử dụng các dòng nấm men có khả năng dung nạp ethanol cao hơn để cải thiện sản lượng ethanol trong quá trình lên men sẽ làm giảm chi phí chưng cất và do đó mang lại lợi nhuận cho toàn bộ quy trình. Trong nghiên cứu này, với 12 dòng nấm men phân lập, tất cả đều chịu được nồng độ cồn ở mức 8 % v/v, trong đó có 10 dòng chịu được nồng độ cồn ở mức 12 % v/v và không có dòng nào chịu được cồn ở mức (16 và 20) % v/v.

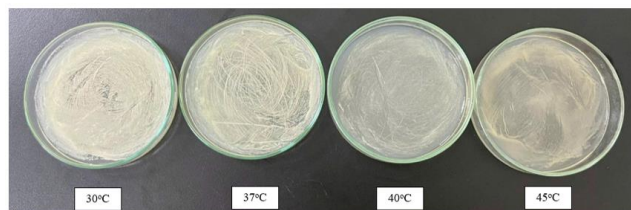
3.3 Kết quả đánh giá khả năng chịu nhiệt của các dòng nấm men phân lập từ men rượu

Trong các quy trình sản xuất ethanol, nhiệt độ là một trong những yếu tố chính quyết định chi phí vận hành của các quy trình lên men công nghiệp và chất lượng của sản phẩm uống có cồn vì nó ảnh hưởng đến hoạt động của các tế bào trong tế bào nấm men. Mỗi loại nấm men sẽ có sự khác biệt lớn về nhiệt độ tối ưu do sự khác nhau về mặt địa lý của môi trường sống. Bên cạnh việc đánh giá khả năng chịu cồn, khả năng chịu nhiệt của 12 dòng nấm men được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3 Khả năng chịu nhiệt của các dòng nấm men phân lập

Tên cơ sở	Dòng nấm men	Nhiệt độ (°C)			
		30	37	40	45
Cô Màng	CM1	++++	+++	++	+
	CM2	++++	+++	++	+
Mười Lục	ML1	++++	+++	+	—
	ML2	++++	+++	++	—
Út Bình	UB1	++++	+++	—	—
	UB2	++++	+++	—	—
	UB3	++++	+++	+	—
Tư Vũ	TV1	++++	+++	+	—
	TV2	++++	+++	—	—
	TV3	++++	+++	—	—
Cô Ba	CB1	++++	+++	+	+
	CB2	++++	+++	++	—

Chú thích: Sinh trưởng rất nhiều: +++++, Sinh trưởng nhiều: +++, Sinh trưởng ít: ++, Có sinh trưởng: +, Không sinh trưởng: —



Hình 2 Chủng nấm men chịu nhiệt CM1 phát triển trên môi trường thạch YPD

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, cả 12 dòng nấm men phân lập được đều chịu được nhiệt độ 30 °C và 37 °C do nhiệt độ môi trường vùng Đồng bằng sông Cửu Long phổ biến ở (30-32) °C nên tất cả các dòng nấm men phân lập được đều có khả năng phát triển ở nhiệt độ 30 °C và 37 °C, 8 dòng có khả năng chịu được nhiệt độ 40 °C và 3 dòng có khả năng chịu được nhiệt độ ở 45 °C. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của Guimaraes phân lập nấm men *S. cerevisiae* tại các vùng sản xuất rượu nho ở Brazil chỉ có 2 dòng nấm men chịu nhiệt ở 45 °C trong 15 dòng thử nghiệm [12]. Một nghiên cứu khác đã đánh giá khả năng chịu đựng của 66 dòng *S. cerevisiae* trong điều kiện căng thẳng (nhiệt độ, thẩm thấu, khả năng chịu đựng sulfite và ethanol). Kết quả cho thấy trong các điều kiện tăng trưởng khác nhau, chẳng hạn như nhiệt độ khác nhau (30 °C, 37 °C, và 42 °C), nồng độ NaCl (0,5, 0,7 và 1) mol/L, nồng độ sulfite (0,02 và 0,04) % w/v, nồng độ ethanol (0, 6, 12 và 18) % thì 66 chủng nấm men được phân thành hai nhóm lớn. Trong đó, 1 nhóm có khả năng chịu được các điều kiện khắc nghiệt nhất như có thể phát triển ở 42 °C, trong NaCl 1 M, sulfite 0,04 % (w/v) và chịu được 12 % cồn [20].

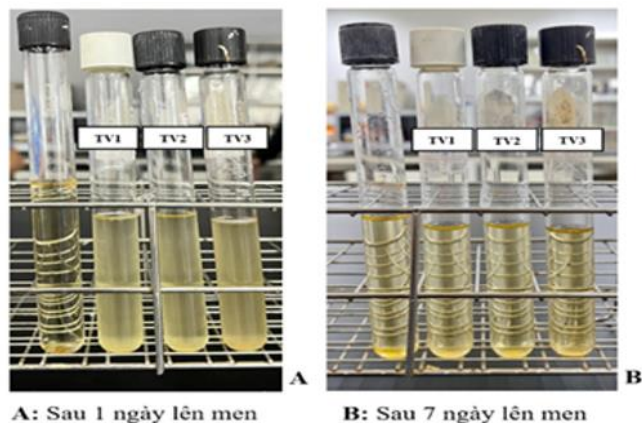
Nhìn chung, các nghiên cứu cho thấy mỗi dòng nấm men thì có nhiệt độ phát triển khác nhau nhưng hầu hết nấm men có nhiệt độ phát triển tối ưu nằm trong khoảng (28-33) °C. Khả năng chịu nhiệt là một đặc điểm đa gen chịu ảnh hưởng của một nhóm gen không biểu hiện gen nên cần tìm hiểu sâu hơn về tác động của nhiệt độ nuôi cấy lên sinh lý của nấm men.

3.4 Kết quả đánh giá khả năng kết lắng của các dòng nấm men phân lập từ men rượu

Ngoài việc khảo sát khả năng chịu cồn và chịu nhiệt, các dòng nấm men còn được khảo sát khả năng kết lắng. Cả 12 dòng nấm men đều có khả năng kết lắng tốt, dịch lên men trong (phần dịch trong có độ cao lớn

hơn 75 % chiều cao của dịch lên men) sau 7 ngày lên men trên môi trường Sabouraud lỏng có bổ sung đường saccharose đến hàm lượng chất khô hòa tan bằng 18 %, các dòng nấm men được khảo sát lắng nhanh làm cho dịch môi trường lên men trong suốt, khả năng kết lắng của 12 dòng nấm men khảo sát đều tốt khi so với nghiên cứu đã công bố 18 dòng men khảo sát chỉ có 1 dòng có khả năng kết lắng tốt [8].

Khả năng kết lắng là một đặc tính rất tốt dùng để sản xuất rượu vang, vì nấm men kết lắng tốt thuộc nhóm nấm men lên men chìm, nhóm nấm men lên men chậm, nên khả năng giữ mùi hương cao, kết lắng tốt làm cho rượu trong nên trong quá trình lắng sẽ không tốn thêm các phụ gia cũng như thiết bị lọc. Mặt khác, nếu nấm men thuộc nhóm nấm men lên men bề mặt hoạt lực lên men mạnh, CO₂ sinh ra nhiều mang theo các chất thơm, làm mất mùi thơm của rượu, cho nên trong sản xuất rượu vang người ta không sử dụng nấm men thuộc nhóm lên men bề mặt. Điều đó cho thấy trong bánh men có khả năng chứa các nấm men có đặc tính lắng tốt.



A: Sau 1 ngày lên men

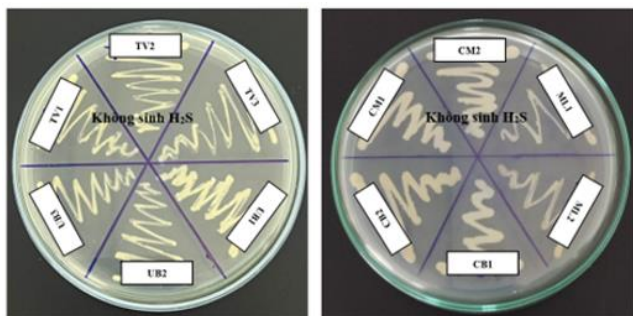
B: Sau 7 ngày lên men

Hình 3 Khả năng kết lắng sau 7 ngày lên men của một số dòng nấm men

3.5 Kết quả đánh giá khả năng sinh hydrogen sulfide của các dòng nấm men phân lập từ men rượu

Trong môi trường LA, có chứa chì acetate, nếu nấm men sản xuất H₂S, thì H₂S sẽ phản ứng với chì acetate tạo PbS có màu đen, H₂S sinh ra càng nhiều thì càng nhiều PbS được tạo ra, nồng độ PbS càng cao sẽ làm cho môi trường càng đen, các dòng không sinh H₂S sẽ không làm thay đổi màu môi trường, các giống nấm men sinh nhiều H₂S sẽ làm cho rượu có mùi trứng thối không thích hợp cho sản xuất rượu. Do vậy, khả năng sinh H₂S của 12 dòng nấm men phân

lập đã được khảo sát. Trong 12 dòng khảo sát thì tất cả các dòng đều không sinh H_2S , không làm đen môi trường LA như Hình 3. Trong một nghiên cứu về khả năng sinh H_2S của nấm men được phân lập ở Brazil thì số dòng có khả năng sinh H_2S chiếm đến 53,33 % (8/15). Hơn nữa, trong nghiên cứu về các dòng nấm men được phân lập từ bánh men rượu ở Đồng bằng sông Cửu Long cho thấy có đến 66,66 % dòng có khả năng sản xuất H_2S (20/30) [8].



Hình 4 Khả năng sinh H_2S và không sinh H_2S trên môi trường LA của các dòng nấm men

4 Kết luận

Mười hai chủng nấm men được phân lập từ 5 mẫu men rượu được sử dụng trên địa bàn thành phố Cần Thơ đã được nhận diện và mô tả. Trong đó, tất cả các chủng nấm men phân lập được đều có khả năng chịu được cồn ở nồng độ 8 % v/v, 10 chủng có khả năng chịu được cồn ở nồng độ 12 % v/v. Tất cả chủng nấm men phân lập đều có khả năng phát triển ở 37 °C, 8 chủng nấm men có khả năng phát triển ở 42 °C và 3 chủng có khả năng phát triển ở 45 °C, qua đó cho thấy nấm men từ men rượu trên địa bàn thành phố Cần Thơ có khả năng phát triển ở nhiệt độ cao. Bên cạnh đó, 12 chủng nấm men này đều không sinh H_2S , lắng tốt (chiều cao đoạn dịch trong lớn hơn 75 % chiều cao đoạn dịch lên men).

Lời cảm ơn Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ về cơ sở vật chất và kinh phí thực hiện của Trường Đại học Cần Thơ và Sở Khoa học và Công nghệ TP. Cần Thơ.

Tài liệu tham khảo

1. Ngô Thị Phương Dung. (2009). Sản xuất và ứng dụng men thuần trong lên men rượu nếp than. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 11B, 392-403.
2. Nguyễn Đức Vượng, Phạm Nam Giang, Trần Thanh Hằng, Trần Hữu Trung, Nguyễn Thị Mỹ Hằng, Đinh Thị Hồng. (2015). Làm men riêng lên men rượu từ riêng tại phường Quảng Long, thị xã Ba Đồn, tỉnh Quảng Bình. *Tạp chí Thông tin Khoa học và Công nghệ Quảng Bình*, 4, 43-45.
3. Phạm Anh Tuấn, Hoàng Văn Đạt, Hồ Tuấn Anh. (2017). Tuyển chọn dòng nấm men, nấm mốc từ bánh men lá ứng dụng trong nâng cao chất lượng rượu làng nghề tại Hà Giang. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 6(79), 73-79.
4. Roehr, M. (2001). The Biotechnology of Ethanol: Classical and Future Applications. *Federal Republic of Germany*, 6(12), 1019-1020.
5. Abdel-Banat, B. M., Hoshida, H., Ano, A., Nonklang, S., & Akada, R. (2010). High-temperature fermentation: How can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), 861-867.
6. Benítez, T., Del Castillo, L., Aguilera, A., Conde, J., & Cerdáolmedo, E. (1983). Selection of wine yeasts for growth and fermentation in the presence of ethanol and sucrose. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(5), 1429-1436.
7. Phong, H. X., Giang, N. T. C., Nitiyon, S., Yamada, M., Thanonkeo, P., & Dung, N. T. P. (2016). Ethanol production from molasses at high temperature by thermotolerant yeasts isolated from cocoa. *Can Tho University Journal of Science*, 3, 32-37.

8. Guimarães, T. M., Moriel, D. G., Machado, I. P., Picheth, C. M. T. F., & Bonfim, T. M. B. (2006). Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains of winery interest. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(1), 119-126.
9. Lee, A. C., & Fujio, Y. (1999). Microflora of banh men, a fermentation starter from Vietnam. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(1), 51-55.
10. Dung, N. T. P., Rombouts, F. M., & Nout, M. J. R. (2007). Characteristics of some traditional Vietnamese starch-based rice wine fermentation starters (men). *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 130-135.
11. Limtong, S., Sintara, S., Suwannarit, P. & Longtong, N. (2002). Yeast diversity in Thai traditional alcoholic starter. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 36(2), 149-158.
12. Jeyaram, K., Singh, W. M., Capece, A., & Romano, P.(2008). Molecular identification of yeast species associated with ‘Hamei’ - A traditional starter used for rice wine production in Manipur, India. *International Journal of Food Microbiology*, 124(2), 115-125.
13. Bora, S. S., Keot, J., Das, S., Sarma, K., & Barooah, M. (2016). Metagenomics analysis of microbial communities associated with a traditional rice wine starter culture (Xaj-pitha) of Assam, India. *3 Biotech*, 6(2), 1-13.
14. Kumar, R. S., Shankar, T., & Anandapandian, K. T. K. (2011). Characterization of alcohol resistant yeast *Saccharomyces cerevisiae* isolated from Toddy. *International Research Journal of Microbiology*, 2(10), 399-405.
15. Zainab, A., Amos, Y., Datsugwai, M. S. S., & Mathew, B. (2018). Quality assessment of water melon (*Citrullus lanatus*) wine produced using *Saccharomyces cerevisiae* isolated from palm wine. *Journal of Biomaterials*, 2(2), 65-73.
16. Khaing, T. W., Weine, N., & Mya, M. O. (2008). Isolation, characterization and screening of thermo tolerant, ethanol tolerant indigenous yeasts and study on the effectiveness of immobilized cell for ethanol production. *Journal of Science and Technology*, 1, 12-14.
17. Stanley, D., Fraser, S., Chambers, P. J., Rogers, P., & Stanley, G. A. (2010). Generation and characterisation of stable ethanol-tolerant mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37(2), 139-149.
18. Niu, Y. P., Lin, X. H., Dong, S. J., Yuan, Q. F., & Li, H. (2016). Indentation with atomic force micriscope, *Saccharomyces cerevisiae* cell gains elasticity under ethanol stress. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 79, 337-344.
19. Techaparin, A., Thanonkeo, P., & Klanrit, P. (2017). High-temperature ethanol production using thermotolerant yeast newly isolated from Greater Mekong Subregion. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(3), 461-475.
20. Ramos, C. L., Duarte, W. F., Freire, A. L., Dias, D. R., Eleutherio, E. C. A., & Schwan, R. F. (2013). Evaluation of stress tolerance and fermentative behavior of indigenous *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 935-944.

Isolation and characterization of yeast strains from alcoholic starters in Can Tho City

Huynh Quoc Huy^{1,*}, Nguyen Thi My Trinh¹, Tran Thi Nhu Ngoc¹, Luu Minh Chau¹,
Nguyen Ngoc Thanh¹, Doan Thi Kieu Tien², Huynh Xuan Phong^{1,**}

¹Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

²Faculty of Biochemical and Food Technology, Can Tho University of Technology

*huym0522003@gstudent.ctu.edu.vn, **hxphong@ctu.edu.vn

Abstract Rice wine is generally popular in Viet Nam and Mekong Delta region in particular. For traditional village-made rice wine, the quality of the fermentation starter is one of the key factors that determines the yield and quality of the wine. This study was conducted to isolate yeast strains from fermentation starter samples in Can Tho City and determine several characteristics of the isolated yeast strains, such as ethanol tolerance, heat tolerance, sedimentation ability, and H₂S production. The aim was to preserve pure yeast strains and to apply them in the local rice wine fermentation process. The results showed that 12 yeast strains were isolated from 5 alcoholic starter samples. When assessing alcohol tolerance, all these yeast strains could withstand alcohol concentrations of 8 % v/v, with 10 strains tolerating 12 % v/v. All isolated yeast strains could grow at temperatures of 30 °C and 37 °C, 8 strains could grow at 40 °C, and 3 strains could grow at 45 °C. Additionally, none of the 12 isolated yeast strains produced H₂S, and they all had good sedimentation ability.

Keywords Ethanol tolerance, heat tolerance, alcoholic fermentation, alcoholic starter, yeast.

Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết lên hoạt tính chống oxy hóa, thành phần ginsenoside và dược tính của dịch chiết sâm Ngọc Linh

Nguyễn Quốc Duy^{1,*}, Nguyễn Thị Vân Linh¹, Huỳnh Quốc Trung¹, Nguyễn Đức Tín¹, Đinh Trung Hiếu¹, Trần Thế Minh¹, Lương Trọng Khoa²

¹Viện Ứng dụng công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Công ty Cổ phần Sâm Việt Nam VINAPANAX

*nquy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv) là một trong những loại thảo dược có giá trị kinh tế và dược tính nổi bật tại Việt Nam bao gồm khả năng chống ung thư, chống viêm, chống trầm cảm, chống stress và tác dụng bảo vệ tế bào gan. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình chiết xuất dịch sâm Ngọc Linh lên hàm lượng phenolic tổng, hoạt tính chống oxy hóa, thành phần ginsenoside và hoạt tính kháng viêm. Kết quả cho thấy trong khi 40 °C là nhiệt độ tốt nhất để thu được dịch chiết có hàm lượng phenolic và hoạt tính chống oxy hóa (ABTS và FRAP) cao nhất, nhiệt độ 60 °C lại được ghi nhận là hiệu quả để chiết xuất thành phần saponin trong củ sâm Ngọc Linh. Ngoài ra, kết quả phân tích HPLC-MS cũng kết luận rằng Rg1 và Mr2 là hai ginsenoside chính trong dịch chiết sâm Ngọc Linh ngoài các ginsenoside khác bao gồm Re, Rb1 và Rd. Dịch chiết cũng không thể hiện độc tính tế bào ở nồng độ dưới 1 000 µg/mL và dịch chiết thu được ở nhiệt độ chiết cao (60 °C và 80 °C) cho thấy hoạt tính ức chế các cytokine gây viêm NO và IL-6 hiệu quả hơn.

Nhận 03/09/2024
Được duyệt 29/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Sâm Ngọc Linh
nhiệt độ chiết xuất,
chất chống oxy hóa,
thành phần ginsenoside,
hoạt tính kháng viêm

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grush.) hay còn gọi là sâm Ngọc Linh (SNL) thuộc họ Araliaceae là một loại cây quý hiếm được công nhận trên toàn thế giới vì những đặc tính dược liệu vượt trội của nó [1]. Nhiều nghiên cứu đã kết luận rằng đây là một trong những loại sâm quý hiếm và quý nhất thế giới bên cạnh các giống từ Hàn Quốc, Nhật Bản, Trung Quốc và Hoa Kỳ. Hàm lượng saponin của SNL cao hơn nhiều về nồng độ cũng như đa dạng hơn về cấu trúc so với các loài sâm khác trên thế giới [2]. Các saponin này có thể được chia thành bốn phân nhóm chính dựa trên sự khác biệt về cấu trúc hóa học của aglycone, bao gồm protopanaxadiol (PPD), protopanaxatriol (PPT),

ocotillol (OCT) và oleanane (OA). Tương tự như các loài *Panax* L. nổi tiếng khác như *Panax ginseng*, *Panax notoginseng* và *Panax quinquefolius*, các thành phần saponin chính của *Panax vietnamensis* bao gồm saponin loại dammarane có bộ khung protopanaxadiol (Rb1, Rc, Rd) hoặc bộ khung protopanaxatriol (Rg1, Re, R1). Thú vị hơn, saponin trong *Panax ginseng* và *Panax quinquefolium* chủ yếu thuộc loại PPD và PPT, saponin loại ocotillol chiếm số lượng lớn nhất trong SNL, hơn 50 % tổng số saponin [3]. Majonoside R2 (Mr2), có hàm lượng cao nhất (5,29 %) trong số các saponin được phân lập từ SNL, là một saponin loại ocotillol đáng chú ý không có trong *Panax ginseng*. Ngoài ra, các saponin khác, bao gồm ginsenoside Rb1, ginsenoside Rd, ginsenoside Re, ginsenoside Rg1,

majonoside R1, notoginsenoside R1, vinaginsenoside R1, vinaginsenoside R2 và vinaginsenoside R11 cũng là những thành phần chính trong rễ và thân rễ của SNL. Về dược tính, SNL đã được chứng minh là có một số tác dụng sinh học như hoạt tính chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan, chống stress và chống ung thư [4]. Các hợp chất saponin chính như Mr2, Rg1 và Rb1 cho thấy khả năng hạn chế peroxy hóa lipid do gốc tự do gây ra. Hầu hết các saponin loại dammarane có chuỗi bên loại ocotillol, cho thấy loại cấu trúc này có thể cần thiết cho tác dụng bảo vệ tế bào gan và khả năng chống viêm trong các đại bào thực bào được kích hoạt bằng lipopolysaccharide của sâm Việt Nam [4].

Chiết là phương pháp sử dụng dung môi lôi cuốn các chất tan trong mô thực vật. Quá trình chiết mẫu thường sử dụng các dung môi như là methanol, ethanol tinh khiết hoặc nước và thường kết hợp với nhiệt, siêu âm, vi sóng, Soxhlet hoặc chất lỏng siêu tới hạn [5]. Trong đó, chiết nước nóng là một phương pháp phổ biến, an toàn, thân thiện với môi trường và chi phí thấp với khả năng chiết xuất nhiều hợp chất khác nhau từ nguyên liệu thực vật như trà xanh [6], húng tây [7] và trà đen [8]. Một số nghiên cứu cho thấy sự ảnh hưởng của nhiệt độ lên chất lượng dịch trích như hoạt tính chống oxy hóa polyphenol ở 20 °C cao hơn 1,7 lần mẫu trích ở 120 °C [9]. Hiện tại, các nghiên cứu về SNL chưa được thực hiện và công bố nhiều tại Việt Nam cũng như trên thế giới. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất hàm lượng chất chống oxy hóa (phenolic), hoạt tính chống oxy hóa (ABTS và FRAP), thành phần ginsenoside và khả năng kháng viêm của dịch chiết SNL.

2 Nguyên liệu và phương pháp

2.1 Nguyên liệu

Củ SNL 6 năm tuổi được thu hoạch ở huyện Nam Trà My (Quảng Nam, Việt Nam). Củ sâm được lựa chọn có kích thước đồng nhất với độ dài (9-10) cm và có màu vàng nâu sáng. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đạt chuẩn phân tích.

Phương pháp thu nhận dịch chiết SNL

Sau khi thu nhận và rửa sạch với nước để loại bỏ tạp chất, củ SNL được cắt lát với độ dày (0,3-0,5) cm và xay nhuyễn. Dịch chiết SNL được thu nhận bằng

phương pháp chiết rắn-lỏng sử dụng dung môi nước dưới sự hỗ trợ của siêu âm. Cụ thể, hỗn hợp sâm sau khi xay nhuyễn được chiết với nước theo tỉ lệ 1:10 (g/mL) ở ba điều kiện nhiệt độ khác nhau là 40 °C, 60 °C và 80 °C trong 15 phút. Sau khi được siêu âm trong 5 phút bằng máy siêu âm JPS-10A (80 W, 40 kHz) và ly tâm tốc độ cao bằng máy TG16 (Yingtai, China) ở mức 7 000 rpm trong 10 phút. Dịch bên trên được thu nhận và phân tích các chỉ tiêu hóa học và dược tính.

2.2 Phương pháp phân tích

2.2.1 Độ pH và tổng chất khô hòa tan

Độ pH của mẫu được đo bằng máy đo pH kỹ thuật số A211-pH (Thermo Scientific Orion Star, Indonesia) trong khi tổng chất khô hòa tan (TSS, độ Brix) được đo bằng khúc xạ kế kỹ thuật số cầm tay PR-101 (Atago Co., Tokyo, Japan).

2.2.2 Hàm lượng phenolic tổng

Tổng hàm lượng phenolic của dịch chiết SNL được đo bằng phương pháp Folin-Ciocalteu với một số sửa đổi [10]. Cụ thể, mẫu dịch pha loãng (0,6 mL) được trộn với 1,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu được pha loãng 10 lần bằng nước cất và ủ 5 phút trước khi thêm 1,2 mL dung dịch Na₂CO₃ 7,5 %. Sau khi ủ trong bóng tối 30 phút, độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở 765 nm bằng máy đo quang phổ UV2600 (Shimadzu, Kyoto, Japan). Hàm lượng phenolic tổng được tính toán dựa trên đường chuẩn acid gallic và được biểu thị bằng mg đương lượng acid gallic trong 1 L dịch (mg GAE/L).

2.2.3 Hoạt tính khử gốc tự do ABTS

Hoạt tính chống oxy hóa ABTS được xác định theo được thực hiện theo quy trình được mô tả trong nghiên cứu trước đó với một số sửa đổi [10]. Dịch phân tích (0,2 mL) được phản ứng với 2,8 mL thuốc thử ABTS được điều chỉnh về độ hấp thụ 1,1 ở bước sóng 734 nm. Hỗn hợp được giữ trong bóng tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và độ hấp thụ được xác định ở cùng bước sóng. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS được tính toán dựa trên đường chuẩn Trolox và được biểu thị bằng mg đương lượng Trolox trong 1 L dịch (mg TE/L).

2.2.4 Hoạt tính khử sắt FRAP

Hoạt tính khử sắt FRAP được thực hiện theo quy trình được mô tả trong nghiên cứu trước đó với một số thay đổi [10]. Thuốc thử FRAP được điều chế bằng cách

trộn 2,5 mL dung dịch TPTZ (10 mM) pha trong HCl 40 mM, 25 mL dung dịch đệm acetate (0,3 M ở pH = 3,6) và 2,5 mL dung dịch FeCl_3 (20 mM). Để phản ứng, dịch phân tích (0,2 mL) được phản ứng với 2,8 mL dung dịch thuốc thử FRAP. Hỗn hợp được giữ trong bóng tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và độ hấp thụ được xác định ở bước sóng 593 nm. Hoạt tính chống oxy hóa FRAP được tính toán dựa trên đường chuẩn Trolox và được biểu thị bằng mg đương lượng Trolox trong 1 L dịch (mg TE/L).

2.2.5 Thành phần ginsenoside

Thành phần ginsenoside trong dịch chiết được định lượng bằng hệ thống sắc ký lỏng Shimadzu LC-40D (Shimadzu, Kyoto, Japan) ghép với cột phenyl (250 mm $\times$ 4.6 mm; 5.0 μm), đầu dò UV SPD-20A và bơm LC-40D. Mẫu được pha loãng với methanol, siêu âm ở 45 °C trong 15 phút trước khi được lọc qua màng PTFE 0.45 μm . Pha động bao gồm nước (dung môi A) và acetonitrile (dung môi B) với gradient rửa giải như sau: 80 % A trong 5 phút, 77 % A trong (5-20) phút, 70 % A trong (20-25) phút, 60 % A trong (25-32) phút, 50 % A trong (32-38) phút, 15 % A trong (38-52) phút và 80 % A trong (52-61) phút. Tốc độ dòng được cố định ở 1 mL/phút và nhiệt độ buồng cột được duy trì ở 35 °C. Bước sóng UV sử dụng để phát hiện hợp chất là 203 nm và thể tích tiêm mẫu là 10 μL . Chất chuẩn ginsenoside sử dụng bao gồm: Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rb2, Rd, Rg3 và Mr2.

2.2.6 Độc tính tế bào và hoạt tính kháng viêm

Khả năng gây độc tế bào và hoạt tính kháng viêm của dịch chiết được xác định theo phương pháp được mô tả trong nghiên cứu trước đó [11].

Nuôi cấy tế bào: tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong DMEM chứa 10 % FBS và 1 % penicillin. Tế bào được duy trì ở 37 °C trong môi trường ẩm với tủ ẩm CO_2 5 %. Tế bào nuôi cấy phụ được xử lý bằng 0,05 % Trypsin-EDTA (1X).

Độc tính tế bào: độc tính tế bào của dịch chiết trong môi trường không có huyết thanh được đánh giá bằng bộ xét nghiệm EZ-Cytox. Tế bào RAW 264.7 được cấy với mật độ 1×10^5 trên một giếng trong một đĩa 96 giếng. Sau đó, các tế bào được xử lý bằng các chiết xuất có nồng độ khác nhau và ủ trong 24 giờ. Sau đó, 10 μL

EZ-Cytox được thêm vào và ủ thêm trong 2 giờ. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo tại 450 nm và khả năng sống của tế bào được tính toán.

Hoạt tính kháng viêm: tác dụng ức chế phản ứng viêm của đại thực bào được thực hiện trên các cytokine gây viêm bao gồm NO và IL6. Các tế bào được cấy với mật độ 1×10^5 trên mỗi giếng trong các đĩa 96 giếng và ủ trong 12 giờ, sau đó kích thích bằng 50 μL lipopolysaccharide (LPS) 10 $\mu\text{g/mL}$ và ủ trong 4 giờ. Sau đó, 100 μL dịch chiết ở các nồng độ khác nhau được thêm vào các giếng và ủ trong 24 giờ. Corticosterone acetate được sử dụng làm đối chứng dương ở nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ hòa tan trong DMSO.

2.2.7 Phương pháp xử lý thống kê

Dữ liệu thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm SPSS 26 (SPSS Inc. Chicago, USA) sử dụng những kỹ thuật thống kê cơ bản. Phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA) được áp dụng để xác định sự khác nhau giữa các chế độ xử lý mẫu và Tukey's Multiple Range test được áp dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa 5 %.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên tính chất hóa lý của dịch chiết SNL

Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên một số tính chất hóa lý của dịch chiết SNL được trình bày trong Bảng 1. Có thể dễ dàng nhận thấy rằng pH và tổng chất khô hòa tan của ba mẫu không có sự khác biệt đáng kể và lần lượt nằm trong khoảng (5,76-5,81) °Bx và (1,0-1,1) °Bx. Việc xử lý nhiệt nguyên liệu trong dung môi nước gia tăng sự thẩm thấu của các phân tử nước vào bên trong mô thực vật và thúc đẩy quá trình truyền khối của các chất tan bên trong nguyên liệu [12]. Trong khi đó, hàm lượng phenolic tổng và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết giảm khi tăng nhiệt độ chiết từ 40 °C lên 80 °C. Kết quả này cho thấy sự khác biệt với một số nghiên cứu khác về chiết xuất sâm. Trong một nghiên cứu khác, nhiệt độ và thời gian tối ưu cho việc thu nhận dịch chiết có hoạt tính chống oxy hóa DPPH, ABTS và FRAP cao là 90 °C trong 60 phút do nhiệt độ cao giúp giải phóng các phenolic tự do trong nguyên liệu [13]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, nhiệt độ thấp tỏ ra

hiệu quả hơn đối với nguyên liệu SNL. Điều này có thể được giải thích bởi sự khác biệt về loại nguyên liệu và thành phần saponin trong củ sâm. Đối với SNL, thành phần majonoside R2 (Mr2) thuộc loại ocotillol chiếm hàm lượng cao nhất, khác với sâm Hàn Quốc. Rõ ràng,

chiết xuất nước nóng là một giải pháp thay thế an toàn, thân thiện với môi trường và chi phí thấp trong khi vẫn có khả năng chiết xuất nhiều nhóm hợp chất từ nguyên liệu thực vật [14]. Tuy nhiên, việc gia nhiệt quá mức có thể gây ra tổn thất đáng kể về chất lượng dinh dưỡng.

Bảng 1 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết lên một số tính chất hóa lý và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết SNL

Chỉ tiêu đo	Nhiệt độ chiết (°C)		
	40	60	80
pH	5,76 ± 0,01 ^a	5,80 ± 0,02 ^b	5,81 ± 0,01 ^b
TSS (°Bx)	1,1 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,1 ^a	1,1 ± 0,2 ^a
Phenolic (mg GAE/L)	9,24 ± 0,15 ^c	4,14 ± 0,06 ^a	5,28 ± 0,14 ^b
ABTS (mg TE/L)	28,97 ± 1,15 ^a	23,97 ± 0,71 ^b	22,38 ± 0,23 ^c
FRAP (mg TE/L)	4,70 ± 0,10 ^a	3,96 ± 0,12 ^b	4,05 ± 0,04 ^b

Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp. Giá trị trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5 % ($p < 0,05$).

3.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên thành phần ginsenoside của dịch chiết SNL

Ginsenoside thuộc nhóm saponin steroid và saponin triterpene, là những hợp chất hoạt tính sinh học được nghiên cứu nhiều nhất trong sâm [15]. Thành phần ginsenoside của dịch chiết SNL được chiết ở ba mức nhiệt độ khác nhau được trình bày trong Bảng 2. Kết quả cho thấy Rg1 và Mr2 là hai ginsenoside chính có mặt với hàm lượng lớn trong dịch chiết SNL ngoài các ginsenoside khác bao gồm Re, Rb1 và Rd. Dễ dàng nhận thấy rằng, khác với hoạt tính chống oxy hóa, hàm lượng saponin và thành phần ginsenoside của dịch chiết ở 60 °C cho thấy giá trị cao nhất trừ hợp chất Re. Điều này cho thấy tính ổn định của một số ginsenoside giảm do tiếp xúc với nhiệt độ cao [13]. Ngoài ra, có thể giải thích rằng gốc đường trong phân tử saponin dạng glucoside được thủy phân và tạo thành các hợp chất ginsenoside có trọng lượng phân tử thấp khác. Sự gia tăng hàm lượng saponin trong sâm khi xử lý nhiệt ẩm có thể được giải thích bằng quá trình nhiệt phân malonyl ginsenoside, tạo ra aglycone của saponin chuỗi diol; ví dụ, Rg2 và Rh1 được chuyển hóa từ Re [16].

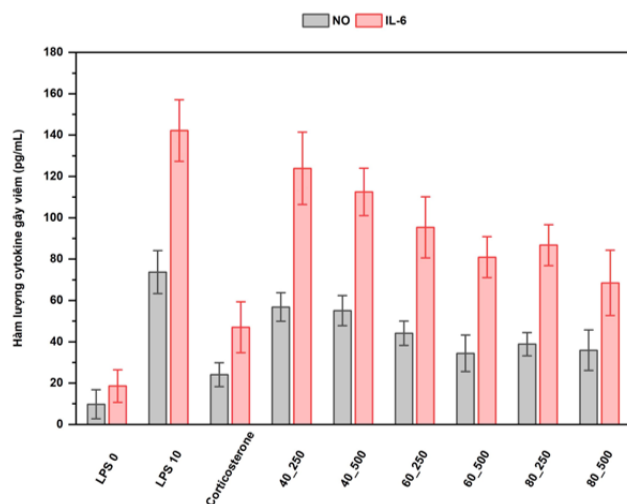
Bảng 2 Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất lên thành phần ginsenoside của dịch chiết SNL

Hợp chất (mg/L)	Nhiệt độ chiết xuất (°C)		
	40	60	80
Rg1	845,8	998,5	465,8
Re	78,3	66,0	61,8

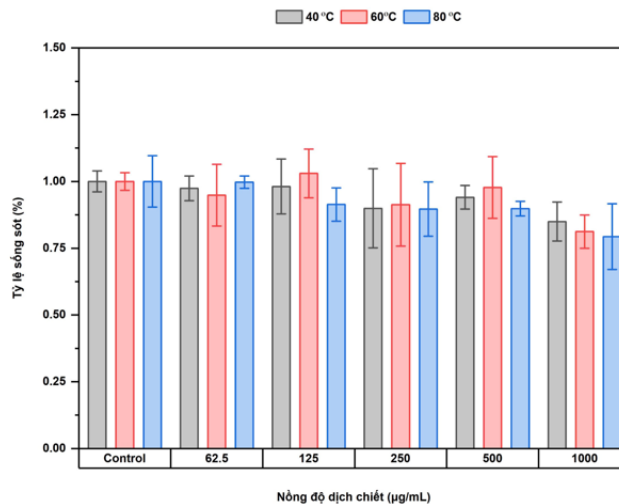
Rb1	156,3	175,5	93,5
Rd	64,3	107,5	32,0
Mr2	500,0	650,0	486,5
Tổng	1644,7	1997,5	1139,6

3.3 Đánh giá độc tính tế bào và hoạt tính kháng viêm của dịch chiết SNL

Viêm là phản ứng sinh học thiết yếu để phục hồi cân bằng mô, nhưng tình trạng viêm quá mức có thể dẫn đến tổn thương cho tế bào. Ngoài ra, tác dụng chống viêm chủ yếu bằng cách giảm các chất trung gian gây viêm của các hợp chất có thể bị thay đổi tùy thuộc vào phương pháp chiết và thành phần của dịch chiết [17]. Về hoạt tính kháng viêm của dịch chiết SNL trình bày ở Hình 1, có thể nhận thấy rằng khả năng ức chế hình thành cytokine gây viêm NO và IL-6 của dịch chiết thu nhận ở nhiệt độ 60 °C và 80 °C cao hơn dịch chiết ở 40 °C với nồng độ NO và IL-6 lần lượt nằm trong khoảng (34,39-44,13) pg/mL và (68.51-95.40) pg/mL. Ngoài ra, việc tăng nồng độ dịch chiết sâm lên 500 µg/mL cũng ức chế sự hình thành các cytokine gây viêm khi so sánh với nồng độ 250 µg/mL. Ginsenoside thể hiện các tác động chống viêm rõ rệt đã được chứng minh bởi nhiều nghiên cứu khác nhau [18]. Bên cạnh đó, ginsenoside cho thấy làm giảm sự tạo ra các phân tử gây viêm và mRNA của các cytokine/enzyme gây viêm [19]. Sâm và nhiều loại ginsenoside, chẳng hạn như Rg1, Rg3, Rp3 và F4, cho thấy hiệu quả ức chế quá trình hoạt hóa tiểu cầu và huyết khối [20].



Hình 1 Hoạt tính kháng cytokine gây viêm NO và IL-6 ở các nồng độ khác nhau của dịch chiết SNL được chiết ở các nhiệt độ khác nhau



Hình 2 Độc tính tế bào của dịch chiết SNL được chiết ở các nhiệt độ khác nhau

Ngoài ra, kết quả trình bày ở Hình 2, dịch chiết SNL được chiết ở ba nhiệt độ khác nhau đều không thể hiện độc tính đối với tế bào RAW 264.7 khi sử dụng với nồng độ dưới 1000 ug/mL.

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng nhiệt độ chiết xuất trong quá trình chiết xuất bằng nước nóng 60 °C làm tăng 21,5% tổng hàm lượng ginsenoside cũng như các ginsenoside khác (như Rg1, Rb1, Rd và Mr2) trong củ SNL so với chiết ở nhiệt độ 40 °C. Tuy nhiên, nhiệt độ cao hơn (80 °C) lại làm giảm hàm lượng các hợp chất này. Mặt khác, nhiệt độ chiết xuất trên 40 °C lại làm giảm hàm lượng phenolic, hoạt tính chống oxy hóa ABTS và hoạt tính chống oxy hóa FRAP tương ứng là 55,2%, 17,3% và 15,7%. Xét về dược tính của dịch chiết từ củ SNL, việc sử dụng với nồng độ dưới 1000 ug/mL không gây ra độc tính trên tế bào và dịch chiết thu nhận ở nhiệt độ chiết cao (60 và 80 °C) thể hiện hoạt tính kháng các cytokine gây viêm NO và

IL-6 cao hơn 36,8-44,7% so với dịch chiết ở nhiệt độ thấp. Các kết quả trên cho thấy rằng nhiệt độ đã làm thay đổi khả năng chiết xuất, cấu trúc hóa học và nồng độ của ginsenosides, hợp chất phenolic và các thành phần hoạt tính sinh học khác, tác động đến đặc tính chống oxy hóa và dược tính của chúng. Có thể kết luận rằng dịch chiết từ SNL là nguồn dồi dào các hợp chất hoạt tính sinh học thể hiện tác dụng chống viêm và chống oxy hóa cao, từ đó cho thấy tiềm năng ứng dụng trong thực dược phẩm. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu khác cần được thực hiện để hiểu đầy đủ về cơ chế hoạt động lâm sàng và cận lâm sàng, khả năng tương tác thuốc và tối ưu hóa việc sử dụng các hợp chất này trong điều trị. Ngoài ra, việc khám phá thân lá sâm như một giải pháp thay thế tiết kiệm chi phí với các đặc tính hoạt tính sinh học tương tự có thể mở rộng khả năng tiếp cận và ứng dụng của nó.

Lời cảm ơn

Cám ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ điều kiện cơ sở vật chất trong suốt quá trình nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

1. Chaingam, J., Noguchi, K., Nuntawong, P., Vimolmangkang, S., Yodsurang, V., Yusakul, G., Morimoto, S., & Sakamoto, S. (2024). Monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for quantification of majonoside R2 as an authentication marker for Ngọc Linh and Lai Chau ginsengs. *Journal of Ginseng Research*, 48, 474-480.

2. Thanh, N. T., Van, T. T. H., Hung, L. V., Van Khiem, N., Mai, L. Q., Xuyen, D. T., Oanh, P. T., Van Hai, D., Dien, N. D., & Nhut, D. T. (2023). Bioactive Compounds and Biological Activities of Vietnamese Ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). *Bioactive Compounds in the Storage Organs of Plants*, 1-25.
3. Le, Q.-U., Lay, H.-L., Wu, M.-C., Nguyen, T. H.-H., & Nguyen, D.-L. (2018). Phytoconstituents and biological activities of *Panax vietnamensis* (Vietnamese Ginseng): A precious ginseng and call for further research-a systematic review. *Natural Product Communications*, 13(10), 1934578X1801301036.
4. Tran, Q. Le, Adnyana, I. K., Tezuka, Y., Nagaoka, T., Tran, Q. K., & Kadota, S. (2001). Triterpene Saponins from Vietnamese Ginseng (*Panax vietnamensis*) and Their Hepatocytoprotective Activity. *Journal of Natural Products*, 64(4), 456-461.
5. Kim, E. O., Xu, J. L., & Um, B. H. (2016). Optimization of extraction of marker compounds from red ginsengs by accelerated solvent extraction using response surface methodology. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 45(8), 1162-1169.
6. Liang, H., Liang, Y., Dong, J., Lu, J., Xu, H., & Wang, H. (2007). Decaffeination of fresh green tea leaf (*Camellia sinensis*) by hot water treatment. *Food Chemistry*, 101(4), 1451-1456.
7. Matshediso, P. G., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2015). Development of pressurised hot water extraction (PHWE) for essential compounds from *Moringa oleifera* leaf extracts. *Food Chemistry*, 172, 423-427.
8. Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M. S. (2016). Temperature and time of steeping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *Journal of Food Science*, 81(1), H246-H254.
9. Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1390-1393.
10. Nguyen, Q.-D., Dang, T., Nguyen, T., Nguyen, T., & Nguyen, N. (2022). Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: effects of drying conditions on some physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Food Science & Nutrition*, 10(1), 191-203.
11. Shan, L., Tyagi, A., Ham, H.-J., & Oh, D. H. (2024). Uncovering the antiinflammatory potential of *Lactiplantibacillus Plantarum* fermented *Cannabis Sativa* L seeds. *npj Science of Food*, 8(1), 42.
12. Plaza, M., Castro-Puyana, M., & Marina, M. L. (2019). Pressure hot water processing of food and natural products. In *Green Food Processing Techniques* (pp. 193-220). Elsevier.
13. Lee, K.-Y., Shim, S.-L., Jang, E.-S., & Choi, S.-G. (2024). Ginsenoside stability and antioxidant activity of Korean red ginseng (*Panax ginseng* CA meyer) extract as affected by temperature and time. *LWT*, 200, 116205.
14. González-Ballesteros, N., Torres, M. D., Flórez-Fernández, N., Diego-González, L., Simón-Vázquez, R., Rodríguez-Argüelles, M. C., & Domínguez, H. (2021). Eco-friendly extraction of *Mastocarpus stellatus* carrageenan for the synthesis of gold nanoparticles with improved biological activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1436-1449.
15. Ratan, Z. A., Haidere, M. F., Hong, Y. H., Park, S. H., Lee, J.-O., Lee, J., & Cho, J. Y. (2021). Pharmacological potential of ginseng and its major component ginsenosides. *Journal of Ginseng Research*, 45(2), 199-210.
16. Yang, S.-J., Woo, K.-S., Yoo, J.-S., Kang, T.-S., Noh, Y.-H., Lee, J.-S., & Jeong, H.-S. (2006). Change of Korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 38(4), 521-525.
17. Zhuang, Y., & Lyga, J. (2014). Inflammaging in skin and other tissues-the roles of complement system and macrophage. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)(Discontinued)*, 13(3), 153-161.
18. Jung, D.-H., Nahar, J., Mathiyalagan, R., Rupa, E. J., Ramadhania, Z. M., Han, Y., Yang, D.-C., & Kang, S. C. (2023). A focused review on molecular signalling mechanisms of ginsenosides anti-Lung cancer and anti-

inflammatory activities. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 23(1), 3-14.

19. Lee, J.-O., Yang, Y., Tao, Y., Yi, Y.-S., & Cho, J. Y. (2022). Korean Red Ginseng saponin fraction exerts anti-inflammatory effects by targeting the NF- κ B and AP-1 pathways. *Journal of Ginseng Research*, 46(3), 489-495.

20. Bian, Y., An, G.-J., Kim, K., Ngo, T., Shin, S., Bae, O.-N., Lim, K.-M., & Chung, J.-H. (2019). Ginsenoside Rg3, a component of ginseng, induces pro-thrombotic activity of erythrocytes via hemolysis-associated phosphatidylserine exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110553.

Effect of extraction temperature on antioxidant activities, ginsenoside profiles and therapeutic properties of Ngoc Linh ginseng extracts

Nguyen Quoc Duy^{1,*}, Nguyen Thi Van Linh¹, Huynh Quoc Trung¹, Nguyen Duc Tin¹, Dinh Trung Hieu¹, Tran The Minh¹, Luong Trong Khoa²

¹Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

²VINAPANAX Company

*nqduy@ntt.edu.vn

Abstract Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv) is one of the medicinal herbs with outstanding economic and medicinal values in Viet Nam, including anti-cancer, anti-inflammatory, anti-depression, anti-stress and hepatoprotective effects. This study was conducted to evaluate the effects of temperature (40, 60 and 80) °C during the extraction of Ngoc Linh ginseng on total phenolic content, antioxidant activity, ginsenoside profiles and anti-inflammatory activity. The results showed that while 40 °C was the optimal temperature to obtain the extract with the highest phenolic content and antioxidant activity, 60 °C was noted to be effective for extracting saponin components in Ngoc Linh ginseng. In addition, results from the HPLC-MS analysis also showed that Rg1 and Mr2 were the two major ginsenosides in Ngoc Linh ginseng extract, in addition to other ginsenosides, including Re, Rb1 and Rd. The extract exhibited no cytotoxicity at doses lower than 1,000 μ g/mL and the extract obtained at high extraction temperatures (60 °C and 80 °C) showed higher inhibitory activity against inflammatory cytokines NO and IL-6.

Keywords Ngoc Linh ginseng, extraction temperature, antioxidant, ginsenoside profile, anti-inflammatory activity

Effects of fish stocking density on water quality and the growth of red tilapia and vegetables in microalgae-aquaponic systems

Co Thi Kinh^{1,*}, Nguyen Thanh Nho¹, Vo Thi Dieu Hien¹, Le Quang Huy¹, Tra Van Tung¹, Vu Quang Manh², Le Thai Hoang¹

¹Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

²Center for Biodiversity Resources Education Research, Ha Noi National University of Education

*ctkinh@ntt.edu.vn

Abstract

This study investigates the impact of fish stocking density on water quality, red tilapia (*Oreochromis sp.*) growth, and mustard green (*Brassica integrifolia*) growth in microalgae-aquaponics systems. Three densities were tested: D1 (90 fish/m³), D2 (70 fish/m³), and D3 (50 fish/m³). Water quality monitoring showed that TAN, NO₂⁻, and NO₃⁻ levels increased with fish density, while phosphate levels remained relatively stable. D1 had the highest total fish weight gain but a lower weight gain rate (91.9 %) compared to D2 (105.6 %) and D3 (134.1 %). D3 had the highest average weight gain per fish (67.78 g) and the best survival rate (100 %), whereas D1 had the lowest survival rate (94 %). Mustard greens grew best in D1. Microalgae density increased during experimental time, with D3 showing the highest biomass in both the algal and fish tanks. The results suggest that higher fish densities promoted plant growth, while lower densities benefited fish and microalgae, thus offering insights for optimizing recirculating microalgae-aquaponics systems.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Received 30/09/2024

Accepted 30/11/2024

Published 28/12/2024

Keywords

microalgae-aquaponics, *Chlorella vulgaris*, fish stocking density, red tilapia, mustard greens

1 Introduction

The rapid increase in global population has led to challenges such as water scarcity, land degradation, climate change, and salinization, thus affecting food production [1]. To address the rising food demand due to resource limitations, a shift from unlimited growth-based farming models to balanced and sustainable practices is necessary [2]. In aquaculture, wastewater discharge from traditional intensive farming methods poses serious environmental and ecological threats, as well as risks to human health and the sustainability of aquatic resources [2]. To mitigate these issues,

environmentally friendly and sustainable farming practices are essential.

Aquaponics, which integrates fish farming with hydroponic vegetable cultivation in a recirculating water system, is a sustainable and eco-friendly food production method [1, 3]. It combines aquaculture and hydroponics in a symbiotic environment, where nutrients from fish wastewater are used to nourish plants, and water is recycled back into the fish tanks [4]. Aquaponics offers a nearly waste-free solution for treating aquaculture wastewater, efficiently using limited land and water resources, while providing

economic benefits through sustainable production of both fish and plants [5].

Due to the low nitrogen utilization efficiency in aquaponics systems, especially in high fish stocking densities, most nitrogen remains in the system, causing significant environmental impacts and requiring technical improvements to optimize nutrient retention [1]. To address this issue and enhance the efficiency and sustainability of aquaponics systems, integrating microalgae cultivation into the system has been proposed [6, 7]. Microalgae, which can convert light energy into biomass and fix carbon dioxide through photosynthesis, also assimilate nutrients like nitrogen and phosphorus from wastewater. This allows microalgae to improve nutrient removal or recycling, thereby aiding in the treatment of fish wastewater in aquaponics systems [5].

Recently, microalgae have been explored as a valuable addition to aquaponics systems. Microalgae are known for their ability to remove excessive nutrients, such as nitrogen and phosphorus, from aquatic environments, which makes them suitable for aquaponic systems that need to manage fish waste efficiently [5]. In addition, microalgae generate oxygen through photosynthesis, and further improve water quality by supporting aerobic processes in the system. The integration of microalgae in aquaponics has been shown to enhance nutrient recycling and stabilize water quality, thus supporting both plant growth and fish health [7]. Several studies have applied microalgae, specifically *Chlorella sp.*, in aquaponics systems to remove nutrients from fish tanks and improve water quality in the system [7, 8]. Different algae species exhibit various nutrient absorption abilities, and their compatibility with specific plants is crucial to maximize nutrient recycling and system productivity. Addy et al. (2017) [7] demonstrated that algae can enhance water quality in aquaponics systems by helping to control pH reduction associated with nitrification, generating dissolved oxygen in the system, and serving as a supplemental fish feed due to their high content of unsaturated fatty acids.

Fish stocking density is one of the most critical variables in aquaponics systems, as it directly affects nutrient levels, water quality, and the overall system balance [5, 9]. Stocking density refers to the amount of fish biomass per unit volume of water. As stocking density increases, the amount of fish waste, primarily in the form of ammonia ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$), also increases. Without proper management, high ammonia levels can lead to toxic conditions for fish and reduce plant nutrient uptake [4]. In addition, increased stocking densities may deplete dissolved oxygen levels, resulting in poor fish growth and increased stress [9]. Several studies have examined the effects of fish stocking density on aquaponics systems, with various results. In traditional aquaponics systems, higher fish densities can lead to higher nutrient availability for plants, as more fish waste is converted into plant-usable forms such as nitrate (NO_3^-) [5]. However, extremely high fish densities can lead to nutrient imbalances, where excessive ammonia or nitrate concentrations become detrimental to plant growth [9]. This balance between fish waste production and plant nutrient requirements is crucial to the successful operation of an aquaponics system.

While significant research has been conducted on aquaponics systems, the role of microalgae and the effects of fish stocking density on water quality and plant growth remain underexplored. Most aquaponics research has focused on traditional systems, without integrating microalgae as a functional component. This study will investigate the impact of fish stocking density on water quality, growth performance of red tilapia, and growth performance of mustard greens cultivated in microalgae-aquaponics systems.

2 Methodology

2.1 Experimental setup

The research was conducted over 7 weeks in the Environmental Ecology Laboratory of the Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University, Viet Nam. Three treatments were carried out with varying fish stocking densities: (1) treatment D1 with 90 fish/m³, (2)

treatment D2 with 70 fish/m³, and (3) treatment D3 with 50 fish/m³ [9]. The aquaponics system, as shown in Figure 1, included key components such as a 380 L rectangular glass fish tank (holding 350 L water for fish rearing), a 200 L plastic biological filter with Kalnes media and aeration, a 200 L plastic sedimentation tank, and a 200 L plastic automatic water supply tank. The hydroponics system, consisting of three plastic containers (size of 105 cm × 43 cm × 16 cm), was arranged using nutrient film technique (NFT) method. Each hydroponic container plants 12 mustard greens. For algal tank, a 65 L rectangular glass was used, which was connected before the fish tank, was used. Air pumps and circulation pumps were installed to ensure continuous aeration and water flow all compartments across systems.

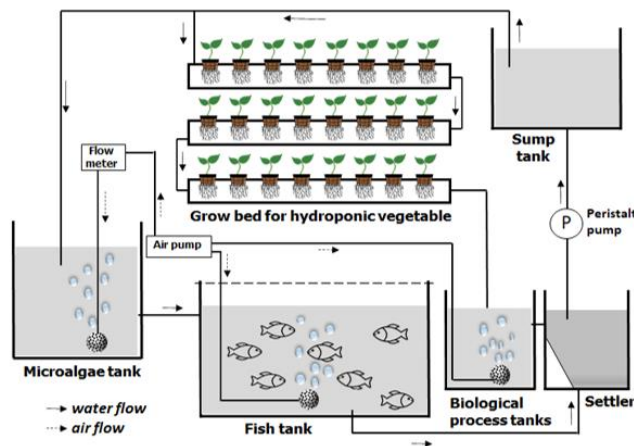


Figure 1 Illustrated diagram of the microalgae - aquaponics system in this study.

Red tilapia (*Oreochromis* sp.), with an average fresh weight of about 52.0 g per fish was used in the experiment. *Oreochromis* sp. was used in this aquaponics system because it possesses an air-breathing organ, enabling it to tolerate low oxygen conditions in the event of aeration system failures [9]. Additionally, this species is known to feed on plants and algae, with *Chlorella vulgaris* microalgae serving as a supplementary food source [10]. Fishes were fed at a rate of about 2.5 % of their biomass per day using 2 mm pellet feed containing 28 % protein [11], specifically formulated for tilapia under 200 g produced by Cargill (USA). The fish were acclimated for about 10 days in laboratory tanks to prevent

transport shock before the experiment. Water was recirculated continuously in all three systems, with periodic water addition to compensate for evaporation losses. Total fish weight used in each system was measured at the beginning and after 45 days at the end of this experiment.

The plant grown in the hydroponic systems was mustard greens (*Brassica integrifolia*). Twelve healthy seedlings, grown on coconut coir for 15 days, were transplanted into each hydroponic container. Sunlight was the primary light source for the plants, supplemented with 8 hour/day of LED lights in the afternoon when there was no direct sunlight. The addition of LED lights was essential because natural sunlight was limited in indoor environments of the experiment, which can restrict photosynthesis and hinder plant development. Fish were introduced to the tanks 7 days before the plants and microalgae were added, with the plants being introduced 14 days later to ensure nutrients sufficiency for plant and algal growth. The plants were harvested after 45 days of growth. Throughout the experiment, feed intake, and overall health were observed and adjustments to feed amounts were made as necessary. Fish mortality was documented during the study for calculating survival rate of each treatment.

In the microalgae tank, *Chlorella vulgaris*, commonly used in aquaculture for nutrient absorption and environmental improvement, was utilized. The microalgae stock was from the Environmental Microbiology Lab at Nguyen Tat Thanh University. Prior to its use in the experimental systems, *C. vulgaris* was cultured in BG11 medium and grown in a 5 L plastic container under continuous aeration, with (2000-3000) lux light intensity, at a temperature of (25-28) °C. After (10-14) days, when the microalgae reached peak growth, they were transferred to the microalgae tanks of the aquaponics systems at 5 % of the tank volume. The microalgae were introduced into the aquaponics system on day 7, following the introduction of fish into the system. Microalgal growth in both the algae and fish tanks was monitored to evaluate factors influencing algal survival.

Microalgae cell density was tracked using spectrophotometric measurements at 680 nm (OD680), with higher OD680 values indicating greater microalgal density in the tanks. It should be noted that the wavelength of 680 nm is commonly used to measure microalgal density because it corresponds to the absorption peak of chlorophyll-a, the primary pigment involved in photosynthesis in most microalgae. Therefore, it is the ideal wavelength for estimating microalgal density. The microalgal density was measured spectrophotometrically using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 680 nm (OD680) [12]. Samples (10 mL each) were collected from three distinct locations within the fish tank and the microalgal tanks to ensure representative data. Measurements were conducted in triplicate for each sample, and the average OD680 value was reported.

2.2 Sampling and analysis method

To evaluate the fish growth, several parameters of the fish were observed, including survival rate, weight gain, and initial biomass and biomass at the time of harvest. For the plants, fresh weight was measured during harvest. Algal and water samples were collected once a week at around 10 a.m. from the algal and fish tanks of the systems. Water quality parameters in the fish tanks such as water temperature, pH, and dissolved oxygen (DO) were monitored using water testing equipment. Total ammonia nitrogen (TAN), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), and phosphate (PO_4^{3-}) were analyzed using

standard methods [18]. The fish survival rate and weight gain were calculated using the following formulas:

$$(1) \text{ Survival rate: } \text{SR} (\%) = (\text{Nt} / \text{No}) \times 100$$

where SR is survival rate (%); Nt is the number of fish at the end of the experiment; No is the initial number of fish

$$(2) \text{ Weight gain: } \Delta W = W_t - W_o$$

where ΔW is the weight gain (g); W_t is the average weight at time t (g); W_o is the initial average weight (g);

The average fish weight, plant weight, and the minimum and maximum values of water quality parameters were calculated using Microsoft Excel.

3 Results and discussions

3.1 Water quality in the fish tanks

The ranges of water quality parameters including pH, temperature, dissolved oxygen (DO), total ammonia nitrogen (TAN), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), and phosphate (PO_4^{3-}) – for fish tanks with three different stocking densities (90 fish/ m^3 , 70 fish/ m^3 , and 50 fish/ m^3) in a microalgal-aquaponics system over 45 days were shown in Table 1. The results show that pH, temperature, and DO remained within appropriate ranges for tilapia growth and development across all systems. Maximum concentrations of TAN, NO_2^- , and NO_3^- in fish tanks increased with increased stocking density, while PO_4^{3-} levels slightly decreased.

Table 1 The ranges of water quality parameters, including pH, temperature, concentrations of DO, TAN, NO_2^- , NO_3^- , and PO_4^{3-} for fish tanks with three different stocking densities in microalgal-aquaponics systems over 45 days of experimentation and the appropriate values for tilapia found in other studies

Parameters	D1 (90 fish/ m^3)	D2 (70 fish/ m^3)	D3 (50 fish/ m^3)	Appropriate ranges for tilapia in other studies
Water temperature ($^{\circ}\text{C}$)	26.3-28.8	26.6-29.2	25.7-29.1	18-32.9 [11]
pH	6.73-7.67	6.87-7.53	6.96-7.58	6-9 [11]
DO (mg/L)	3.26-5.41	3.55-5.87	3.41-6.04	≥ 3 [18]
TAN (mgN/L)	3.72-11.98	1.60-9.32	1.72-5.80	0.17-3.78 [19], 11-33 [3]
NO_2^- (mgN/L)	0.14-0.54	0.04-0.32	0.03-0.44	0.02-0.12 [20], 6.0-8.0 [7], < 5.0 [11]
NO_3^- (mgN/L)	6.45-31.92	4.80-26.12	4.94-23.98	0.2-219 [21], 16-31 [22], 26.7-54.7 [23]
PO_4^{3-} (mgP/L)	1.84-5.32	2.18-5.65	2.34-6.25	11.8-14.5 [24], 7.6-9.0 [23], 2.5-4.4 [25]

Water quality across treatments was similar except for TAN and NO_3^- , which increased with higher fish

densities. Maximum TAN and NO_3^- concentrations were highest in D1 (11.98 mgN/L and 31.92 mgN/L),

followed by D2 (9.32 mgN/L and 26.12 mgN/L) and D3 (5.80 mgN/L and 23.98 mgN/L). Ammonium ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$), produced by fish waste and decomposing feed, can be toxic at elevated levels. TAN levels of 11–33 mgN/L are tolerable for red tilapia [3], TAN levels should be below 3.78 mgN/L in aquaculture systems [15]. In this study, the TAN levels across all treatments were generally within safe limits.

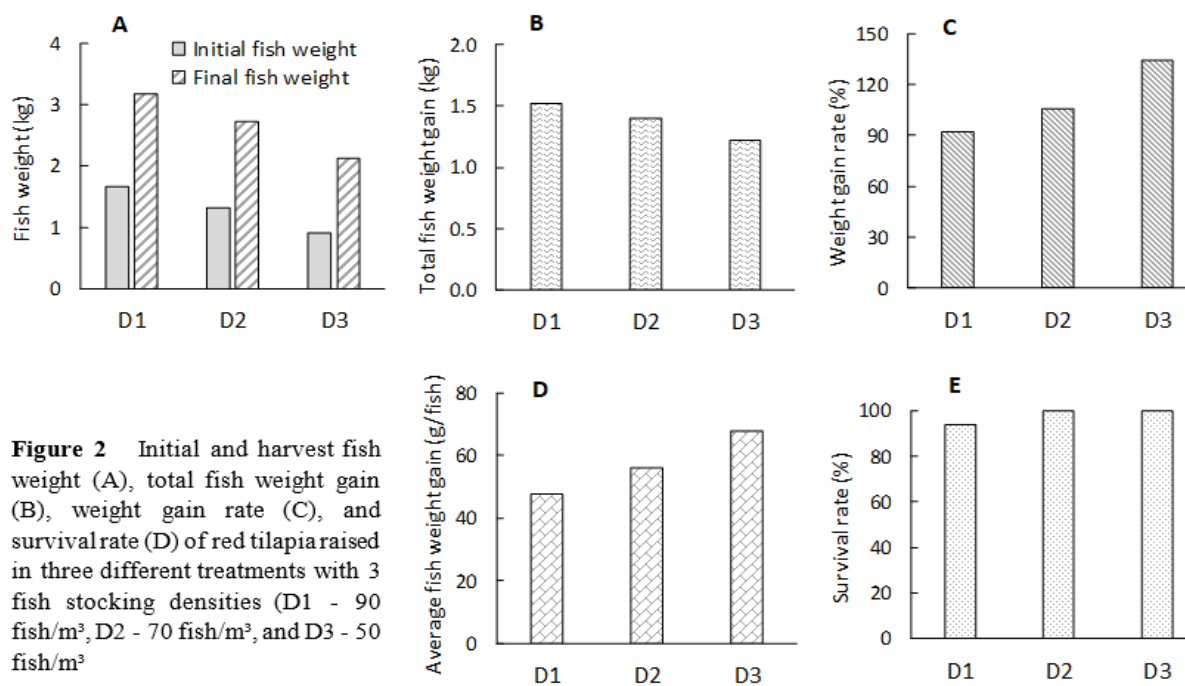
The range of PO_4^{3-} levels recorded in D1 treatment (1.84–5.32 mgP/L) was similar to those in D2 (2.18–5.65 mgP/L), while that range of D3, from 2.84 to 6.25 mgP/L, was slightly higher. Compared with other researches, range of PO_4^{3-} levels found in all the three microalgae-aquaponics systems of this study are similar to those values in polyculture aquaponics systems found in other studies, i.e. (2.5–4.4) mgP/L [41], (0.6–9.0) mgP/L [42].

The range of PO_4^{3-} levels in D1 (1.84–5.32) mgP/L was comparable to those in D2 (2.18–5.65) mgP/L, while D3 recorded a slightly higher range (2.34–6.25) mgP/L. These values are consistent with other studies, reported PO_4^{3-} levels of (11.8–14.5) mgP/L [18], observed levels ranging from 7.6 mgP/L to 9.0 mgP/L in polyculture aquaponics systems [17]. This demonstrates that the

PO_4^{3-} concentrations observed in this study fall within typical ranges for such systems.

The findings show that water quality parameters, including TAN, NO_2^- , and NO_3^- concentrations tended to increase with higher fish stocking densities. This result is consistent with previous studies that have demonstrated higher fish biomass contributes to elevated nutrient levels in aquaponic systems, as fish waste generates higher levels of $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, which is then converted into NO_2^- and NO_3^- through nitrification processes [4]. However, reductions in TAN and NO_2^- were less efficient in higher-density treatments (D1), suggesting that the biological filtration capacity of the system may have been overwhelmed at these higher densities. This finding is also supported by previous research, which suggests that increased stocking density can impair the efficiency of the biological filtration system [20]. PO_4^{3-} concentrations were not significantly different between treatments, possibly indicating that phosphate uptake by plants did not fully correlate with fish stocking density or that the system reached a threshold for PO_4^{3-} removal.

3.2 Fish and plant growth performance



The data of initial and harvest fish weight, total fish weight gain, weight gain rate, and survival rate of red

tilapia raised in three different treatments with 3 fish stocking densities was shown in Figure 2. The growth

performance of tilapia varied across the three microalgae-aquaponics systems with different stocking densities. D1 had the highest total weight gain (1.52 kg), but the lowest weight gain rate (91.9 %) and average weight gain per fish (47.6 g). D3 showed the highest average weight gain (67.78 g/fish) and survival rate (100 %), while D1 had a lower survival rate (94 %). Poorer water quality in D1, especially higher TAN and NO_2^- levels, was likely contributed to its reduced growth and survival rates, highlighting the impact of stocking density on fish performance.

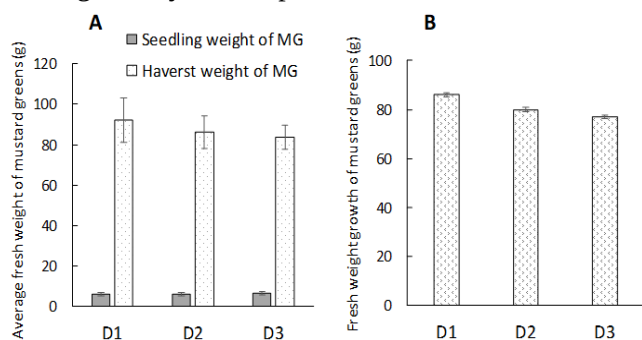


Figure 3 Average fresh weight (A) and fresh weight growth (B) of mustard greens cultivated in hydroponic sections of three microalgae-aquaponics systems with varying fish stocking densities: D1 (90 fish/m³), D2 (70 fish/m³), and D3 (50 fish/m³)

The lower weight gain rate of tilapia in the D1 treatment, despite the highest overall biomass, may indicate that higher stocking densities can lead to increased competition for food and space, thereby reducing individual growth rates. Previous research has shown that high stocking density can lead to stress in fish, which may reduce their growth performance and feed conversion efficiency [21, 22]. The highest average weight gain was observed in D3 treatment, where fish density was the lowest, suggesting that more space and resources per fish lead to better growth performance. The lower survival rate (94 %) in D1 compared to D2 and D3 (100 %) may also indicate increased mortality risk under high stocking density, which has been widely documented in aquaculture settings [9, 22]. This reduced survival rate could be attributed to higher stress levels, increased disease susceptibility, or competition among the fish.

The results of average fresh weight and biomass of mustard greens at harvest (after 45 days of growth) for the treatments are shown in Figure 3. The average weight of harvested mustard greens was (92.12 ± 9.79) g/plant in treatment D1, compared to (86.20 ± 7.85) g/plant in D2, and (83.60 ± 6.02) g/plant in D3. This indicates that the biomass of harvested vegetables increases with higher fish stocking density. However, compared to data from other studies and cultivation guidelines [9, 23], these weights are not the maximum for this vegetable. Under optimal conditions, this type of vegetable can reach approximately 150 g/plant after (40 to 50) days of growth.

The increase in mustard green biomass with higher fish densities aligns with the hypothesis that higher nutrient availability, especially nitrogen compounds (TAN, NO_2^- , NO_3^-), enhances plant growth. Nitrogen is essential for plant development, and its abundance in the system possibly boosts nutrient uptake by plants. Although PO_4^{3-} levels remained stable across treatments, its sufficient presence likely met plant growth needs, showing no significant differences in uptake. This is consistent with other studies which suggest that phosphorus can reach a saturation point where additional amounts no longer significantly boost growth [24].

3.3 Microalgae growth

Optical density (OD_{680}) refers to the measurement of absorbance or turbidity of a microalgal culture at a wavelength of 680 nm using a spectrophotometer. The higher the OD_{680} value, the greater the concentration of microalgae in the culture. The data of OD_{680} over the operation time of the aquaponics – microalgae system, measured in the algae tanks and fish tanks of the three treatments was shown in Figure 3. It showed that the density of *Chlorella vulgaris* in both algal tanks and fish tanks generally increased in all three treatments over (3 to 4) weeks after being introduced into the aquaponic systems. Comparing the three treatments, the algae density in the fish and algae tanks was similar in treatments D1 and D2, but the corresponding values were generally higher in treatment D3 throughout the experiment. Additionally, the growth of microalgae biomass in all the algae tanks were not as high as in the

pure culture environment (BG11 medium used during the preparation stage, where OD_{680} reached 1 to 2 after about 10 days of cultivation). This could be due to the

microalgae not fully adapting to the system's water conditions as compared to the initial BG11 culture.

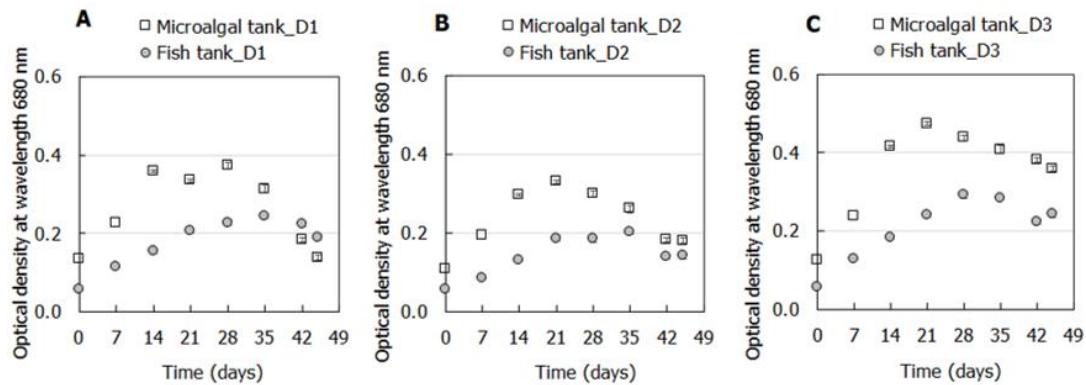


Figure 4 Optical density measurements at a wavelength of 680 nm (OD_{680}) over the operation time of the aquaponics–microalgae system, measured in the algae tanks and fish tanks of the three treatments with different fish stock densities including D1: 90 fish/m³, D2: 70 fish/m³, and D3: 50 fish/m³.

Previous studies highlighted that light, temperature, and nutrients such as nitrogen, phosphorus, and carbon are key factors in microalgae growth [25]. Microalgae in D3 likely thrived due to better water quality, including lower TAN and NO_2^- levels, supporting healthier growth. Phosphorus is essential for microalgae, aiding cellular functions like enzyme production and energy regulation [7]. Another factor that can affect microalgal growth is pH. According to various studies, pH is a crucial factor for *Chlorella vulgaris*, influencing several biological processes, such as nutrient uptake, photosynthesis, and enzyme activity [7, 26]. The optimal pH range for the growth of *Chlorella vulgaris* is from 7.0 to 8.5 [26]. In this study, pH levels were the lowest value in D1 pH = (6.73–7.67), while D3 pH = (6.96–7.58) had the highest algal density. This pattern indicates that pH may play a role in influencing the growth of *Chlorella vulgaris* under these conditions.

The results of this study suggest several practical implications for the design and management of microalgae-aquaponics systems. First, optimizing stocking density is critical to maintain water quality and promote both fish and plant growth. Higher densities may increase nutrient availability for plants, but this comes at the cost of lowered fish growth

performance and survival. Secondly, the introduction of microalgae into aquaponic systems may benefit nutrient cycling and water quality, yes requires careful management of water chemistry to ensure optimal algal growth.

4 Conclusion

This study demonstrates the considerable influence of fish stocking density on water quality, fish growth, and plant productivity in microalgae-aquaponics systems. Higher stocking densities (D1 - 90 fish/m³) led to increased nutrient concentrations, foster improved mustard green growth and reduce fish weight gain and survival rates. Conversely, lower densities (D3 - 50 fish/m³) enhanced fish growth and microalgae biomass. The results indicate that moderate densities (D2 - 70 fish/m³ or D3) offer an optimal balance between maximizing both fish and plant yields while maintaining favorable water quality. These findings provide valuable insights for designing and optimizing microalgae-aquaponics systems.

Acknowledgement

This research was funded by the Scientific Research Grant from Nguyen Tat Thanh University (project number 50/QD-NTT) and the Professor Le Tri Vien Research Fund. The research team sincerely extends their gratitude.

References

1. Yep, B., & Zheng, Y. (2019). Aquaponic trends and challenges – A review. *Journal of Cleaner Production*, 228, 1586-1599.
2. Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., McNevin, A. A., Tacon, A. G., Teletchea, F., & Tomasso Jr, J. R. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633.
3. Hu, Z., Lee, J. W., Chandran, K., Kim, S., Brotto, A. C., & Khanal, S. K. (2015). Effect of plant species on nitrogen recovery in aquaponics. *Bioresour Technol*, 188, 92-98.
4. Wongkiew, S., Hu, Z., Chandran, K., Lee, J. W., & Khanal, S. K. (2017). Nitrogen transformations in aquaponic systems: A review. *Aquacultural Engineering*, 76, 9-19.
5. Kotzen, B., Emerenciano, M. G. C., Moheimani, N., & Burnell, G. M. (2019). Aquaponics: Alternative Types and Approaches. In S. Goddek, A. Joyce, B. Kotzen, & G. M. Burnell (Eds.), *Aquaponics Food Production Systems: Combined Aquaculture and Hydroponic Production Technologies for the Future* (pp. 301-330). Springer International Publishing, 301-330.
6. Nie, X., Mubashar, M., Zhang, S., Qin, Y., & Zhang, X. (2020). Current progress, challenges and perspectives in microalgae-based nutrient removal for aquaculture waste: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 277, 124209.
7. Addy, M. M., Kabir, F., Zhang, R., Lu, Q., Deng, X., Current, D., Griffith, R., Ma, Y., Zhou, W., Chen, P., & Ruan, R. (2017). Co-cultivation of microalgae in aquaponic systems. *Bioresour Technol*, 245(Pt A), 27-34.
8. Ji, M., Gao, H., Zhang, J., Hu, Z., & Liang, S. (2024). Environmental impacts on algal–bacterial-based aquaponics system by different types of carbon source addition: water quality and greenhouse gas emission. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 1-10.
9. Hussain, A. S., & Brown, P. B. (2024). A Literature Review of Tilapia/Lettuce Aquaponics—Production Status, Varieties, and Research Gaps. *Aquaculture Research*, 2024(1), 2642434.
10. Nagappan, S., Das, P., AbdulQuadir, M., Thaher, M., Khan, S., Mahata, C., Al-Jabri, H., Vatland, A. K., & Kumar, G. (2021). Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. *Journal of Biotechnology*, 341, 1-20.
11. Deyab, E.-S. D. M. S., & Hussein, E. E.-S. (2015). Effects of Different Feeding Rates on Growth Performance and Body Composition of Red Tilapia, *Oreochromis mossambique* x *O. niloticus* , Fingerlings. *International Journal of Aquaculture*, 5.
12. da Silva Pessoa, J., de Almeida, A. C. O., dos Santos, L. F., de Oliveira, T. M., Martins, C. C., Matias, W. G., & Melegari, S. P. (2024). Optical Insight: Spectrophotometry as a Tool to Quantify Cell Density of Green Microalgae in Suspension, with Emphasis on Growing Conditions and Toxicological Evaluations. *Preprints.org*.
13. APHA. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st Edition. *American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC*.
14. Caldini, N., Cavalcante, D., Filho, P., & Carmo-e-Sá, M. (2015). Feeding Nile tilapia with artificial diets and dried bioflocs biomass. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 37, 335-341.
15. Li, W., & Li, Z. (2009). In situ nutrient removal from aquaculture wastewater by aquatic vegetable *Ipomoea aquatica* on floating beds. *Water Sci Technol*, 59(10), 1937-1943.
16. Cavalcante, D., Caldini, N., Lucinda, J., Lima, F., & Carmo-e-Sá, M. (2014). Imbalances in the hardness/alkalinity ratio of water and Nile tilapia's growth performance. *Acta Scientiarum - Technology*, 36, 49-54.

17. Rakocy, J. E., Shultz, R. C., Bailey, D., & Thoman, E. S. (2004). Aquaponic production of tilapia and basil: Comparing a batch and staggered cropping system. *Acta Horticulturae*, 648, 63-69.
18. Nuwansi, K. K. T., Verma, A. K., Rathore, G., Prakash, C., Chandrakant, M. H., & Prabhath, G. P. W. A. (2019). Utilization of phytoremediated aquaculture wastewater for production of koi carp (*Cyprinus carpio* var. koi) and gotukola (*Centella asiatica*) in an aquaponics. *Aquaculture*, 507, 361-369.
19. Lennard, W. A., & Leonard, B. V. (2006). A Comparison of Three Different Hydroponic Sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an Aquaponic Test System. *Aquaculture International*, 14(6), 539-550.
20. Wang, C.-Y., Chang, C.-Y., Dahms, H.-U., & Lai, H.-T. (2017). Effects of stocking density of tilapia on the performance of a membrane filtration recirculating-aquaponic system. *Desalination and Water Treatment*, 96, 22-32.
21. Fatima, S., Komal, W., Minahal, Q., Munir, S., Liaqat, R., & Amman, H. (2020). Effect of stocking density on fish growth and feed conversion ratio: A review. *International Journal of Biosciences (IJB)*.
22. Sabwa, J., Manyala, J., Masese, F., & Fitzsimmons, K. (2021). Effect of stocking density on growth performance of monosex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the aquaponic system integrated with lettuce (*Lactuca sativa*). *Aquaculture and Fisheries*, 7.
23. Jangir, R., Arvadia, L., & Kumar, S. (2017). Growth and yield of mustard (*Brassica juncea* L.), dry weight of weeds and weed control efficiency influence by different planting methods and weed management. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(7), 2586-2593..
24. Bittsánszky, A., Uzinger, N., Gyulai, G., Mathis, A., Junge, R., Villarroel, M., Kotzen, B., & Komives, T. (2016). Nutrient supply of plants in aquaponic systems. *Ecocycles*, 2, 17-20
25. Yaakob, M. A., Mohamed, R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana Gokare, R., & Ambati, R. R. (2021). Influence of Nitrogen and Phosphorus on Microalgal Growth, Biomass, Lipid, and Fatty Acid Production: An Overview. *Cells*, 10(2)
26. Sakarika, M., & Kornaros, M. (2016). Effect of pH on growth and lipid accumulation kinetics of the microalga *Chlorella vulgaris* grown heterotrophically under sulfur limitation. *Bioresource Technology*, 219, 694-701.

Ảnh hưởng của mật độ cá nuôi đến chất lượng nước và tăng trưởng của cá điêu hồng và rau trong hệ thống thủy canh kết hợp vi tảo

Cô Thị Kính^{1*}, Nguyễn Thành Nho¹, Võ Thị Diệu Hiền¹, Lê Quang Huy¹, Trà Văn Tung¹, Vũ Quang Mạnh², Lê Thái Hoàng¹

¹Viện Công nghệ ứng dụng và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Trung tâm Nghiên cứu Giáo dục Tài nguyên đa dạng sinh học, Đại học Sư phạm Hà Nội

*ctkinh@ntt.edu.vn

Tóm tắt Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của mật độ cá nuôi đến chất lượng nước, sự phát triển của cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*) và rau cải ngọt (*Brassica integrifolia*) trong hệ thống thủy canh kết hợp vi tảo. Có 3 nghiệm thức mật độ cá bao gồm: D1 (90 con/m³), D2 (70 con/m³), và D3 (50 con/m³). Theo dõi các chỉ tiêu chất lượng nước cho thấy hàm lượng TAN, NO₂⁻, và NO₃⁻ tăng lên khi mật độ cá càng tăng, trong khi hàm lượng PO₄³⁻ có khuynh hướng ổn định. Nghiệm thức D1 có tổng trọng lượng cá tăng cao nhất nhưng tỷ lệ tăng trọng thấp hơn (91,9 %) so với D2 (105,6 %) và D3 (134,1 %). D3 có trọng lượng tăng trung bình mỗi con cao nhất (67,78 g) và tỷ lệ sống tốt nhất (100 %), trong khi D1 có tỷ lệ sống thấp hơn (94 %). Rau cải ngọt phát triển tốt nhất ở D1. Mật độ vi tảo tăng ở tất cả các nghiệm thức, trong đó D3 có sinh khối tảo cả trong bể tảo và bể cá cao nhất. Có thể thấy mật độ cá cao thúc đẩy sự tăng trưởng của rau thủy canh trong hệ thống, trong khi mật độ cá thấp thì cá và vi tảo tăng trưởng tốt. Điều này cung cấp những hiểu biết giá trị giúp tối ưu hóa hệ thống tuần hoàn aquaponics - vi tảo.

Key words hệ thống aquaponics – vi tảo, *Chlorella vulgaris*, mật độ cá nuôi, cá điêu hồng, cải ngọt

Nghiên cứu bước đầu về môi trường sống của Cà cuống (*Lethocerus indicus*) trong điều kiện thí nghiệm

Trần Bùi Phúc^{1,*}, Bùi Thanh Kiệt¹, Nguyễn Thị Ánh Ngọc¹, Nguyễn Quang Trường¹,
Lương Quang Tường¹, Vũ Quang Mạnh²

¹Viện Ứng dụng Công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Trường Đại học Hòa Bình, Hà Nội

tbphuc@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu giới thiệu bước đầu về mô hình thiết kế nuôi Cà cuống *Lethocerus indicus* trong phòng thí nghiệm tại khu vực miền Nam. Đây là loài côn trùng quý hiếm do môi trường sống tự nhiên hiện nay của nó ngày càng bị thu hẹp. Bước đầu đã thu được các dẫn liệu khoa học về điều kiện nuôi dưỡng Cà cuống trong phòng thí nghiệm. Bể kiếng kích thước (200 × 50 × 60) cm, mực nước (20-30) cm được sử dụng để nuôi thả Cà cuống, trong khi bể nhựa (60 × 40 × 30) cm, mực nước (20-30) cm được dùng để ấp trứng và ấu trùng mới nở. Ổ trứng có màu nâu vàng cho tỉ lệ nở cao hơn khi so với các ổ có màu nâu trắng và nâu tím (> 90 %). Với mật độ nuôi thả 20 con/bể/mẻ và thức ăn là cá chép môi thì tỷ lệ sống của Cà cuống là 10,73 %. Hàm lượng dinh dưỡng của tinh dầu Cà cuống gồm protein (0,73 %) và chất béo tổng (0,12 %). Đây là cơ sở khoa học quan trọng, góp phần gây nuôi và bảo tồn loài Cà cuống quý hiếm có tên trong Sách Đỏ của Việt Nam.

Nhận 02/07/2024

Được duyệt 12/12/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Cà cuống, *Lethocerus indicus*, côn trùng, bảo tồn, tinh dầu

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

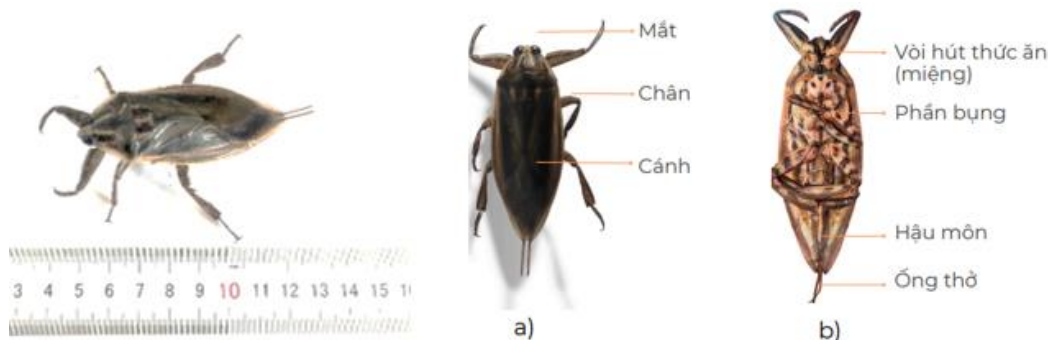
1 Giới thiệu

Cách đây hơn 100 năm, tác giả Nguyễn Công Tiểu đã đưa ra những kết quả về vị trí phân loại, hình thái, một số đặc điểm sinh thái và vai trò của Cà cuống đối với con người [1]. Cà cuống (CC) có tên khoa học là *Lethocerus indicus* (hay còn gọi là bọ nước, sâu quế, đà cuống), là loài côn trùng thủy sinh, thuộc họ Chân bơi (*Belostomatidae*) [2], có đầu nhỏ, 2 mắt to tròn, thân có màu nâu xám, hình lá, dẹt. Trên thân có nhiều vạch màu đen bóng, thường sống ở ruộng lúa, ao, hồ với dòng nước chảy chậm (Hình 1). Loài côn trùng này bắt mồi nhờ vào vòi nhọn và tuyến nước bọt trong miệng thông qua việc hút chích vào con mồi. Thức ăn

của CC rất phong phú gồm các cá thể sống như cá con, nòng nọc [3]. Trong hoạt động sinh trưởng, CC có những tập tính rất độc đáo, đặc biệt là khả năng bắt mồi, và tập tính sinh sản (bao gồm: dẫn dụ, hôn phối, đẻ trứng, chăm sóc con non). Ở ngoài tự nhiên, CC rất nhạy cảm với sự thay đổi của môi trường nước, chúng được đánh giá như một nhân tố chỉ thị sinh học (*Bioindicator*) về môi trường tại sinh cảnh đó, đồng thời cũng là một mắt xích quan trọng trong chuỗi thức ăn: chúng ăn các côn trùng nhỏ và cũng là thức ăn cho các con vật lớn hơn như cá, ếch, chim [4]. Từ xưa, người dân sử dụng CC như thực phẩm, gia vị quen thuộc và được xem là một vị thuốc cổ truyền được sử

dụng trong Đông y [3, 5, 6]. Trên thực nghiệm y học, tinh dầu CC được dùng với liều thấp theo giọt như một chất kích thích thần kinh, gây hưng phấn [6]. Đã có nhiều nghiên cứu về côn trùng ăn được trên thế giới, trong đó có CC là một nguồn thực phẩm giàu dinh dưỡng phổ biến, chứa hàm lượng khá cao protein, lipid, các vitamin và trong tinh dầu chứa các hoạt chất mang ý nghĩa trong ngành dược liệu [7, 8]. Riêng tại Thái

Lan, đã có khảo sát chỉ ra rằng việc nhập khẩu CC từ nước ngoài ngày càng tăng [7]. Vì giá trị kinh tế cao, nhu cầu người dân sử dụng nhiều nên CC ngày càng được săn đón ở nhiều khu vực trên thế giới và tại Việt Nam loài côn trùng này đã được đề cập trong Sách Đỏ với cấp độ nhóm quý hiếm cần bảo vệ xếp ở bậc R và bậc V [9].



Hình 1 Hình thái của CC (*Lethocerus indicus*): a: mặt trước, b: mặt sau.

Trong một số nghiên cứu gần đây, qua việc phân tích di truyền phân tử và tập tính loài CC của một số quốc gia như Việt Nam, Lào, nhóm nghiên cứu khẳng định, CC ở Lào và Việt Nam đều cùng một loài *Lethocerus indicus* [10-12]. Nghiên cứu định loại này cần được mở rộng tại đầy đủ các tỉnh thành phố đại diện cho các vùng miền ở Việt Nam để xem xét sự tồn tại của loài côn trùng này. Để hiểu rõ hơn về các yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển và sinh sản của loài CC trong điều kiện nuôi nhân tạo, đề tài “Nghiên cứu bước đầu về môi trường sống của CC (*Lethocerus indicus*) trong điều kiện thí nghiệm” đã được thực hiện tại Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh nhằm góp phần hình thành cơ sở khoa học trong việc bảo tồn bền vững, gây nuôi, tạo giá trị trong sản xuất và tiêu dùng đối với loài vật quý hiếm ngoài tự nhiên này.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Mẫu vật nghiên cứu

Trứng CC có nguồn gốc ở Hóc Môn, Thành phố Hồ Chí Minh, sau đó được vận chuyển và ấp tại bể trong phòng thí nghiệm ở Quận 12, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành. Một ổ trứng CC dao động từ (100-120) trứng, có

kích thước gần bằng nhau, (2,5-3) cm, và được sinh từ cặp giống có độ tuổi từ (80-100) ngày tuổi.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Quy trình nghiên cứu

Nghiên cứu tập trung quan sát quá trình ấp trứng CC trong phòng thí nghiệm và nuôi ấu trùng đến lúc trưởng thành. Quá trình này có thể được chia thành 3 giai đoạn chính:

2.2.1.1 Giai đoạn 1: thiết kế thí nghiệm (chuẩn bị)

- Chuẩn bị bể nuôi và hệ sinh thái: tạo dựng một môi trường sống nhân tạo mô phỏng môi trường tự nhiên của CC, bao gồm: thiết kế bể nuôi, lựa chọn loại cây thủy sinh, và các yếu tố khác cần thiết cho sự sống của CC: sự khí oxy, máy lọc nước, vật dụng để CC bám vào (cành cây khô, gạch viên) (Hình 2).

- Chuẩn bị mẫu: thu gom mua trứng CC từ trang trại ở huyện Hóc Môn.

2.2.1.2 Giai đoạn 2: quan sát và ghi nhận

- Kiểm nghiệm chất lượng trứng và tỷ lệ nở theo màu sắc ổ trứng.

- Đánh giá sơ bộ sự ảnh hưởng của các yếu tố: mật độ nuôi và loại thức ăn đến tỷ lệ sống của CC.

- Phân tích sơ bộ mẫu tinh dầu CC thu được trong phòng thí nghiệm.

2.2.1.3 Giai đoạn 3: tổng hợp và kết luận

- Mô tả quá trình phát triển của CC từ giai đoạn ấp nở trứng đến lúc trưởng thành.

- Đánh giá sự phù hợp của môi trường sống của CC trong phòng thí nghiệm và nhận xét về các yếu tố ảnh hưởng đến sự sống của chúng.

2.2.2. Bố trí môi trường nuôi

2.2.2.1 Thiết kế bể nuôi

Bể nuôi CC gồm hai hệ thống:

+ Bể nhựa (Hình 2A) có kích thước (60 × 40 × 30) cm, có máy sục oxy và giá thể, mực nước duy trì (2-3) cm, dùng để ấp trứng và nuôi ấu trùng sau khi nở 7 ngày. Sau khi 7 ngày nở, ấu trùng sẽ được chuyển sang bể B. Trứng được ấp trong môi trường phòng thí nghiệm

bằng cách nhúng nước để cung cấp độ ẩm, tần suất (2-3) lần/ngày. Số lượng ấp trong mỗi bể A là 6 ổ trứng/bể.

+ Bể kiếng (Hình 2B) có kích thước (200 × 50 × 60) cm, có hệ thống lọc nước, máy oxy và được ngăn bởi lưới. Mực nước được duy trì (20-30) cm và trong bể có các cây thủy sinh như lục bình, bèo tai tượng, đặc biệt có các giá thể cây (các thanh tre có chiều dài khoảng (30-50) cm đường kính khoảng 2 cm) được bố trí theo phương thẳng đứng làm nơi sinh sản cho CC. Bể (B) dùng để nuôi CC con đến trưởng thành và được vận hành ổn định về hệ sinh thái (độ pH của nước, nhiệt độ, thả cá chép môi dài (1,5-2) cm và thực vật thủy sinh) khoảng 2 tuần trước khi thả CC vào.



Hình 2 Các bể nuôi CC trong phòng thí nghiệm

(A: bể ấp trứng và nuôi ấu trùng, B: bể nuôi kiếng và nuôi CC con đến trưởng thành)

2.2.2.2 Bố trí thí nghiệm

Nuôi CC trong môi trường phòng thí nghiệm ngoài việc đảm bảo ánh sáng, nhiệt độ hợp lý, thì mật độ nuôi thả cũng là vấn đề cần được quan tâm. Bên cạnh đó, lượng thức ăn cho vào bể phải được cung cấp đầy đủ cho CC

săn bắt. Chính vì vậy, mật độ thả CC và loại thức ăn sẽ được tiến hành khảo sát nhằm xem xét sự sinh trưởng của CC trong thời gian phát triển từ ấu trùng đến trưởng thành (Bảng 1).

Bảng 1 Bố trí thí nghiệm nuôi CC

Điều kiện nuôi	Thông số khảo sát	Thông số cố định	Chỉ tiêu đánh giá
Thí nghiệm 1 – Khảo sát chất lượng trứng			
Bể nuôi: bể A	Màu sắc ổ trứng: màu nâu vàng, màu nâu trắng, màu nâu tím	Nhiệt độ: (30-32) °C pH = (6,5-7,5)	Tỷ lệ nở của trứng
Thí nghiệm 2 – Nuôi dưỡng ấu trùng đến trưởng thành			
Bể nuôi: bể B Nhiệt độ: (30-32) °C pH = (6,5-7,5)	Mật độ thả: 20 con/bể, 30 con/bể	Thức ăn: nòng nọc	Tỷ lệ sống của CC
	Thức ăn: nòng nọc, cá chép môi	Mật độ thả tối ưu	

2.2.2 Phương pháp phân tích

2.2.2.1 Phương pháp thu mẫu

Trứng CC được chọn dựa trên tiêu chí màu sắc trứng và có hình bầu dục, kích thước đồng đều, không bị nứt và không có mùi hôi [9]. Bể ấp trứng CC được

thực hiện trong bể A, có đánh số thứ tự 1, 2, và 3 (Hình 3). Nhiệt độ phòng duy trì ở mức (30-32) °C, pH = (6,5-7,5), nhúng trứng vào nước 1 ngày (2-3) lần (sáng chiều, có thể nhúng thêm lần 3 vào buổi trưa nếu trời nắng nóng) và bể đặt nơi có ánh sáng, tránh ánh nắng trực tiếp, mực nước khoảng (2-3) cm và có giá thể phủ đều.

2.2.2.2 Phương pháp thực nghiệm

Phương pháp này nhằm đánh giá sự sinh trưởng và phát triển của CC trong điều kiện nuôi trong phòng thí nghiệm. Bằng cách kết hợp cả hai phương pháp định lượng và định tính, các yếu tố ảnh hưởng đến môi trường sống và sự phát triển của loài này sẽ được ghi nhận, từ đó đưa ra các khuyến nghị về kỹ thuật nuôi hiệu quả trong phòng thí nghiệm.

2.2.2.3 Phương pháp xác định tỷ lệ nở của trứng

Tỷ lệ nở của trứng được xác định bằng công thức sau [13]

$$\text{Tỷ lệ nở (\%)} = 100 \times \frac{\text{Tổng số trứng nở (trứng)}}{\text{Tổng số trứng trong ổ (trứng)}}$$

2.2.2.3 Phương pháp xác định tỷ lệ sống CC [14]

Tỷ lệ sống của CC được xác định bằng công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = 100 \times \frac{\text{Tổng số con sống (con)}}{\text{Tổng số ấu trùng nở (con)}}$$

Bảng 2 Sinh cảnh sống của CC trong phòng thí nghiệm

Bể nuôi	Sinh cảnh sống	Mực nước (cm)	Điều kiện môi trường nuôi
A	- Có cây thủy sinh - Sục khí oxy liên tục	2-3	Nhiệt độ: (30-32) °C pH = (6,5-7,5) Thay nước (5-7) ngày/lần.
B	- Có chỗ ẩn nấp - Có ánh sáng - Tránh nắng trực tiếp	20-30	

Môi trường sống được theo dõi liên tục và duy trì ở giá trị pH = (6,5-7,5) với nhiệt độ phòng (30-32) °C. Nếu nguồn nước bị ô nhiễm thì phải ngay lập tức thay đổi ngay để tránh gây ảnh hưởng đến CC (trừ lúc CC đang lột xác). Nhìn chung, môi trường sống của CC được thiết lập trong phòng thí nghiệm, gồm giá thể, cây thủy sinh và có sẵn con mồi để CC săn bắt. Trong điều kiện thiết kế bể ấp trứng A và bể kiếng B trong phòng thí nghiệm, thì CC sinh trưởng và phát triển trong khoảng thời gian tối đa đến 90 ngày tuổi. Như vậy, thiết kế bể thí nghiệm trong nghiên cứu này được đánh giá khả thi và phù hợp đối với loài CC này.

2.2.3.4 Phương pháp xác định thành phần dinh dưỡng của tinh dầu CC

Dùng đầu nhọn của que tre rạch một đường ngang ở vị trí giữa đôi chân thứ ba của CC, sau đó gấp bụng CC lại sẽ thấy hai túi tinh dầu, gấp túi ra và lấy tinh dầu cho vào lọ khô, đậy kín và lưu trữ mẫu để phân tích. Mẫu được lưu trữ và gửi phân tích xác định protein tổng - phương pháp Kjeldahl (AOAC 993.13) và xác định hàm lượng béo tổng - phương pháp trích ly Soxhlet (AOAC 963.15) tại Trung tâm phân tích Việt Tín, quận Bình Tân, TP. HCM [15, 16].

2.2.2.5 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thể hiện giá trị trung bình (± sai số chuẩn) để tính toán các số liệu trong bài và được thực hiện trên phần mềm Excel.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Sinh cảnh sống của CC trong phòng thí nghiệm

Sinh cảnh tự nhiên của CC thường là các ao hồ, sông ngòi, ruộng lúa, nơi chúng có thể dễ dàng tìm kiếm thức ăn và ẩn nấp. Tuy nhiên, khi đưa CC vào môi trường phòng thí nghiệm, sinh cảnh sống cần được thiết kế sao cho đáp ứng được tối đa các nhu cầu sống của loài sinh vật này.

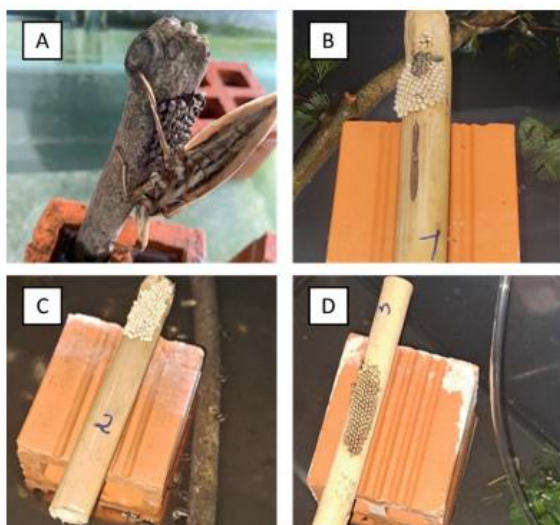
3.2 Tỷ lệ nở của trứng CC trong điều kiện phòng thí nghiệm

Tỷ lệ nở của trứng CC phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm chất lượng trứng, nhiệt độ nơi ấp, độ ẩm, chất lượng nước. Trong đó, màu sắc ổ trứng thể hiện chất lượng trứng. Bảng 3 cho thấy sự màu sắc ổ trứng khác nhau cho tỷ lệ nở khác nhau.

Bảng 3 Tỷ lệ nở của ổ trứng theo màu sắc (%)

STT	Màu sắc ổ trứng	Hình ảnh	Tỷ lệ nở (%)
1	Nâu vàng	Hình 3B	92-94
2	Nâu trắng	Hình 3C	63-80
3	Nâu tím	Hình 3D	0-60

Cụ thể, ồ trứng có màu nâu vàng cho chất lượng trứng tốt nhất, tỉ lệ nở ngoài 90 %, có được khi CC sinh sản lần thứ 2 hoặc 3 và cũng là thời kì sinh sản tốt nhất của chúng. Màu nâu trắng cho chất lượng trứng trung bình tỉ lệ nở vào khoảng (63-80) %, thường thấy ở lần sinh sản đầu tiên của CC, số lượng trứng thường ít hơn các lần sinh sản sau. Ồ trứng màu nâu tím có màu tím ở đầu nhỏ của trứng, thường xuất hiện ở các lần sinh sản cuối cùng của CC, cho tỉ lệ nở thấp hơn khi so với hai loại màu sắc khảo sát ở trên (0-60) %.



Hình 3 Các mẫu trứng CC (*Lethocerus indicus*) trong phòng thí nghiệm (A: CC giống đang đẻ trứng; B: mẫu trứng nâu vàng; C: mẫu trứng nâu trắng; D: mẫu trứng nâu tím)

CC ấu trùng sau khi lột xác lần 1 (7 ngày sau khi nở) được tiến hành tách ra khỏi bể ấp và cho vào bể nuôi kiếng để tiến hành các thí nghiệm theo dõi tiếp theo.

3.3 Ảnh hưởng của mật độ nuôi đến tỷ lệ sống sót của CC trong phòng thí nghiệm

Mật độ nuôi CC là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến sự sinh trưởng và phát triển của chúng. Nếu mật độ quá dày, CC sẽ thiếu không gian sống, oxy, thức ăn và dễ dẫn đến hao hụt do vấn đề sức khỏe. Ngược lại, nếu mật độ quá thưa, sẽ lãng phí diện tích nuôi và không tận dụng được tối đa nguồn nước. Kết quả thí nghiệm được thực hiện với hai mật độ thả khác nhau và được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4 Tỷ lệ sống sót của CC trong phòng thí nghiệm theo các mật độ thả khác nhau

Điều kiện nuôi (Bể B)	Mật độ thả (con)	Tỷ lệ sống sót (%)
- Thức ăn: nòng nọc - Điều kiện nuôi: pH = (6,5-7,5) nhiệt độ (30-32) °C	30	5,18 ± 2,05
	20	8,9 ± 1,36

Kết quả thí nghiệm cho thấy mật độ thả có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ sống của CC. Khi mật độ càng cao, sự cạnh tranh thức ăn và khu vực sống càng gay gắt hơn. Ở mật độ 30 con/bể, lượng thức ăn có thể không đủ đáp ứng nhu cầu của CC, dẫn đến tình trạng suy dinh dưỡng và giảm sức đề kháng, từ đó tỷ lệ sống giảm. Bên cạnh đó, mật độ thả cao cũng đồng nghĩa với việc không gian sống của mỗi con bị thu hẹp, gây stress và tăng khả năng xảy ra các cuộc tranh giành lãnh thổ, tấn công lẫn nhau gây sụt giảm số lượng. Mặt khác, khi số lượng CC tăng, lượng chất thải cũng tăng theo, làm ô nhiễm nguồn nước hơn, dẫn đến sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh, làm giảm chất lượng nước và ảnh hưởng đến sức khỏe của CC. Cuối cùng, mật độ thả cao sẽ tiêu thụ nhiều oxy hơn, làm giảm lượng oxy hòa tan trong nước. Như vậy, với kích thước bể nuôi (20 × 50 × 60) cm thì mật độ 20 con cho thấy tốt hơn.

3.4 Ảnh hưởng của thức ăn đến tỷ lệ sống của CC

Dựa trên bảng số liệu (Bảng 5), tỷ lệ sống của CC khi ăn cá chép mồi cao hơn so với khi ăn nòng nọc khi được nuôi dưỡng trong bể B, ở điều kiện mật độ thả 20 con/bể với pH = (6,5-7,5) và nhiệt độ môi trường xung quanh (30-32) °C. Điều này cho thấy cá chép mồi có thể là một nguồn thức ăn phù hợp hơn cho CC trong điều kiện trong phòng thí nghiệm. Nòng nọc của ếch khoảng 1 tuần tuổi, có kích thước (1 × 2) cm và cá chép mồi đều giàu protein và các chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của CC. Tuy nhiên, dinh dưỡng của nòng nọc có thể thay đổi tùy thuộc vào môi trường sống và dễ làm ô nhiễm nguồn nước nuôi trong bể hơn so với cá chép mồi.

Bảng 5 Ảnh hưởng của loại thức ăn đến tỷ lệ sống của CC

Điều kiện nuôi (Bể B)	Thức ăn	Tỷ lệ sống sót (%)
- Mật độ thả: 20 con - Điều kiện nuôi: pH = (6,5-7,5); Nhiệt độ (30-32) °C	Nòng nọc	8,98 ± 1,35
	Cá chép mồi	10,73 ± 0,99

3.5 Các giai đoạn sinh trưởng và phát triển của CC (*L. indicus*) trong phòng thí nghiệm

Bảng 6 thể hiện sự phát triển của CC từ giai đoạn ấu trùng đến trưởng thành của CC khi được nuôi trong phòng thí nghiệm.

Bảng 6 Sự thay đổi của CC (*Lethocerus indicus*) từ ấu trùng đến trưởng thành

Giai đoạn	Tuổi (ngày)	Khối lượng (g)	Kích thước dài × rộng (cm)
Ấu trùng	1-4	0,028 ± 0,003	0,4 × 0,9
Lột xác 1	5-8	0,12 ± 0,017	0,7 × 1,5
Lột xác 2	9-16	0,34 ± 0,22	1,2 × 2,4
Lột xác 3	17-24	0,97 ± 0,05	1,6 × 3,2
Lột xác 4	25-30	2,79 ± 0,11	2,1 × 4,9
Lột xác 5	31-35	6,8 ± 2,11	4,1 × 10

Bảng 6 cho thấy rõ hơn về hình dạng cũng như kích thước 5 lần lột xác của CC, màu sắc của chúng thay đổi từ nâu nhạt chuyển dần sang đen, bộ cánh cũng trở nên cứng cáp hơn theo thời gian trưởng thành (Hình 4). Ở giai đoạn ấu trùng tức sau khi nở 4 ngày tuổi, trọng lượng và kích thước của chúng rất nhỏ. Sau 5 lần lột xác, tức khoảng 1 tháng thì khối lượng và kích

thước tăng rõ rệt. Điều này cho thấy tốc độ tăng trưởng của ấu trùng rất nhanh. Hành vi bắt mồi hoặc độ cong của móng đóng vai trò quan trọng trong đời sống của CC qua mỗi lần lột xác. Kết quả nghiên cứu này một phần làm rõ các giai đoạn lột xác của CC ở Việt Nam, bổ sung thêm dữ liệu CC và củng cố kết quả của các nghiên cứu trước đây [8, 17].



Hình 4 Hình ảnh các giai đoạn sinh trưởng và phát triển của CC (*Lethocerus indicus*)

3.5 Đánh giá sơ bộ chất lượng tinh dầu CC được nuôi trong phòng thí nghiệm

Với giá trị kinh tế cao của tinh dầu CC, nhu cầu về sản phẩm này ngày càng tăng. Tinh dầu CC là chất lỏng trong suốt, có mùi thơm đặc biệt, được chiết xuất từ tuyến mùi của con CC đực. Túi tinh dầu từ con đực được gom và phân tích thành phần dinh dưỡng, kết quả đạt được gồm protein 0,73 %, khá thấp so với nhiều loại thực phẩm khác và chất béo tổng 0,12 %. Điều này là hợp lý vì mục đích chính của túi tinh dầu là chứa tinh dầu chứ không phải chất béo dự trữ năng lượng và nguồn cung cấp protein chính. So với thành phần protein trong thịt CC, thì lượng

chất béo có trong tinh dầu của CC gần bằng với lượng protein có trong thịt con đực (0,15 %) và nhỏ hơn gần gấp đôi khi so với con cái [8].

4 Kết luận

Trên cơ sở điều tra, phân tích đánh giá môi trường sống, tập tính sống và dinh dưỡng của quần thể loài côn trùng nước CC *Lethocerus indicus* nuôi trong phòng thí nghiệm, nghiên cứu đã thu được dẫn liệu khoa học bước đầu về điều kiện sinh thái môi trường sống của loài vật này. Cụ thể, ổ trứng CC tươi có màu nâu vàng, không bị có đốm lạ, và có kích thước đồng đều cho tỷ

lệ nở cao nhất (trên 90 %). Số liệu ghi nhận vòng đời sống của CC được nuôi trong phòng thí nghiệm là từ (200-250) ngày với tỷ lệ sống từ trứng đến trưởng thành là (8,98-10,73) %; mật độ nuôi 20 con trong bể có kích thước (200 × 50 × 60) cm cho tỷ lệ sống cao hơn (thể tích (0,2-0,3) m³. Tinh dầu CC trong điều kiện nuôi có lượng protein là 0,73 % và chất béo tổng là 0,12 %.

Lời cảm ơn

Đề tài nghiên cứu nhận được tài trợ nghiên cứu từ Quỹ phát triển khoa học và công nghệ của Trường Đại học Nguyễn Tất Thành năm 2024 với mã đề tài 2024.01.48/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. N. C. Tieu. (1928). Notes sur les insectes comestibles au tonkin. *Bulletin Economique de l'Indochine*. Vol. 31, pp. 735-744.
2. A. Van Huis, A. (2022). Progress and challenges of insects as food and feed. *New Aspects of Meat Quality*. 533-557.
3. D. T. Loi. (2012). The medicinal plants and herbs of Viet Nam. *Medical Publishing House*, Vol. 1, pp. 1072-1073.
4. R. Hazarika. (2023). Use of Aquatic Insects To Assess the Biological Status of a Perennial Pond in Assam, Northeast India. *Indian Journal of Entomology*, Vol. 85, No. 2, pp. 297-. doi: 10.55446/IJE.2022.794.
5. N. T. S. Linh. (2021). "Food story" in Vietnam Tourism Development". *TNU Journal of Science and Technology*, 226(08), 348 - 356.
6. L. Mozhui, L. N. Kakati, and V. B. Meyer-Rochow. (2021). Entomotherapy: a study of medicinal insects of seven ethnic groups in Nagaland, North-East India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. Vol. 17, pp. 1-22.
7. V. Melo-Ruiz, C. Moreno-Bonett, K. Sánchez-Herrera, R. Díaz-García, and C. Gazga-Urioste. (2016). Macronutrient composition of giant water bug (*Lethocerus* sp.) edible insect in Mexico and Thailand. *Journal of Agricultural Science and Technol. A*, Vol. 6, No. 5.
8. M. R. Devi, S. B. Ummalyma, A. Brockmann, V. Raina, and Y. Rajashekar. (2023). Nutritional properties of giant water bug, *Lethocerus indicus* a traditional edible insect species of North-East India. *Bioengineered*. Vol. 14, No. 1, p. 2252669.
9. V. Q. Mạnh. (2007). Con cà cuống *Lethocerus indicus* (Lep. et Ser., 1775). *Sách đỏ Việt Nam*, 1, 453-454.
10. S. Phommavongsa, M. Q. Vu, and P. H. A. Nguyen. (2022). Species status of populations of *Lethocerus indicus* (Lepeletier and Serville, 1825) (Heteroptera: Belostomatidae) in Southeast Asia. *The Pan-Pacific Entomologist*. Vol. 98, No. 3, pp. 205-214.
11. S. Phommavongsa, M. Q. Vu, and A. P. H. Nguyen. (2023). Behavioral activities of the giant water bug *Lethocerus indicus* (Lepeletier et Serville, 1775). *Science and Technology Development Journal*. Vol. 26, No. 3, pp. 2996-3007.
12. S. Phommavongsa, N. P. H. Anh, and V. Q. Mạnh. (2021). Nghiên cứu môi trường sống tự nhiên của loài Cà cuống *Lethocerus Indicus* (Lepeletier Et Seville, 1775) (Hemiptera: Belostomatidae) góp phần bảo tồn loài côn trùng nước quý hiếm có tên trong Sách Đỏ Việt Nam. *HNUE Journal Of Science Natural Sciences*. Vol. 66, No. 4F, pp. 128-136.



13. N. T. T. Thảo and N. T. N. Trang. (2015). Ảnh hưởng của các chế độ ánh sáng đến tỷ lệ nở và sinh trưởng của ốc bươu đồng (Pila polita). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. No. 38, pp. 73-79.
14. L. V. Khánh. (2018). Ảnh hưởng của liều lượng Apex Aqua lên tăng trưởng và tỷ lệ sống trong ương giống cá nâu (Scatophagus argus). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. Vol. 54, pp. 72-77.
15. K. Goyal, N. Singh, S. Jindal, R. Kaur, A. Goyal, and R. Awasthi. (2022). “Kjeldahl method”. *Advances in Analytical Chemistry*. Vol. 1, No. 1, p. 105.
16. C. Carpenter. (2010). Determination of fat content. *Food Analysis Laboratory Manual.*, pp. 29-37.
17. V. Q. Mạnh, L.T. B. Lam. (2019). “Đặc điểm hình thái giới tính loài Cà cuồng *Lethocerus indicus* (Lepeletier et Serville, 1825 và môi trường sống của chúng ở Việt Nam)”. *Tạp chí Sinh Học*. 34(2), 166-172.

Preliminary study on the survival and hatching rates of water bugs (*Lethocerus indicus*) under experimental conditions

Tran Bui Phuc^{1,*}, Bui Thanh Kiet¹, Nguyen Thi Anh Ngoc¹, Nguyen Quang Truong¹,
Luong Quang Tuong¹, Vu Quang Manh²

¹ Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

² Hoa Binh University, Ha Noi

*tbphuc@ntt.edu.vn

Abstract The study introduces the initial model of raising *Lethocerus indicus* water bug in laboratory scale in the Southern region of Viet Nam, due to the current loss of its current natural habitat. A glass tank measuring (200 × 50 × 60) cm was used to raise the water bugs and the data of survival and hatching rates were recorded. Results have shown that with a stocking density of 20 individuals/tank/batch, the survival rate of water bugs from eggs to adults was (8.98-10.73) % and the nutritional quality of water bug essential oil included 0.73 % protein and 0.12 % total fat. The yellow – brown egg nests had a higher hatching rate compared to the white – brown and purple – brown nests (> 90 %). Findings from the present study provides essential insights to the breeding and conservation of *L. indicus* water bugs listed in the Vietnam’s Red Data Book.

Keywords Water bug, *Lethocerus indicus*, insect, conservation, essential oil.

Nghiên cứu giải pháp tưới tiết kiệm nước thích ứng với thâm nhập mặn cho vườn cây sầu riêng ở xã Tam Bình, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang

Nguyễn Hồng Thủy

Trường Đại học Tiền Giang (TGU)

nguyenhongthuy@tgu.edu.vn

Tóm tắt

Hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất là một kỹ thuật tưới mới, hiệu quả và tiết kiệm, được thử nghiệm cho vườn cây sầu riêng ở xã Tam Bình, huyện Cai Lậy tỉnh Tiền Giang. Áp dụng hệ thống tưới khuếch tán dưới mặt đất với mức tưới 96 L/cây/ngày vào các khoảng thời gian coi đợt đã thuận thực cho kết quả ẩm độ đất ở Vườn mô hình và Vườn đối chứng tương đương nhau, dao động trong khoảng > (70-80) %; mặc dù cây ở Vườn mô hình phát triển chậm hơn với số chồi non, chiều dài chồi chính, chiều dài chồi phụ đều thấp hơn so với Vườn đối chứng nhưng kích thước lớn hơn so với Vườn đối chứng; tổng số quả trên cây của Vườn mô hình (24,80) nhiều hơn so với Vườn đối chứng (16,05) và năng suất quả (98,61 kg/cây) cao hơn so với Vườn đối chứng (61,23 kg/cây). Giải pháp vét mương, đào ao trữ nước kết hợp sử dụng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất dưới dạng tích hợp vào hệ thống tưới phun mưa sẵn có tại các nông hộ có ý nghĩa đặc biệt về kinh tế – xã hội trong trường hợp nước ngọt tưới cây trở nên khan hiếm, giúp nông dân trồng sầu riêng chủ động bảo vệ vườn cây, thích ứng lâu dài với xâm nhập mặn.

Nhận 29/08/2024

Được duyệt 10/11/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Sầu riêng,
xâm nhập mặn,
tưới tiết kiệm nước,
năng suất, chất lượng

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Sầu riêng là cây trồng chủ lực của tỉnh Tiền Giang, với diện tích 14 870 ha [1], chiếm 18,6 % tổng diện tích cây ăn trái toàn tỉnh, là loại cây có giá trị kinh tế lớn. Mặc dù xâm nhập mặn là vấn đề thường niên của sản xuất nông nghiệp Tiền Giang, nhưng trước đây vùng trồng sầu riêng chưa bao giờ bị ảnh hưởng. Ngay cả diễn biến hạn mặn phức tạp mùa khô 2015-2016 vẫn chưa ghi nhận thiệt hại trên cây sầu riêng. Cho đến mùa khô 2019-2020, khi độ mặn tăng cao đột biến, xâm nhập sớm, duy trì lâu, lấn sâu vào nội đồng tỉnh Tiền Giang, đã làm hơn 4 459 ha sầu riêng bị thiệt hại, trong đó 922 ha thiệt hại từ 30 % đến 70 %, 3 537 ha thiệt hại từ 70 % đến 100 % [1]. Ảnh hưởng của mặn đối với cây trồng biểu hiện qua các triệu chứng cháy lá, vàng lá, rụng lá, rụng hoa và trái,...

làm giảm sinh trưởng phát triển, ảnh hưởng đến năng suất [2]. Tùy theo hàm lượng muối hòa tan trong nước tưới và lượng nước tưới/số lần tưới cho cây sầu riêng mà xảy ra các trường hợp sau: (i) Cây bị cháy lá toàn bộ và rụng lá nhiều do nồng độ muối trong nước tưới cao vượt quá ngưỡng chống chịu của cây; (ii) Cây không bị rụng lá hàng loạt nhưng lá cây sẽ bị cháy từ chóp lá và hai bên mép lá và sau đó lá cũng bị rụng.

Trong số các nguyên nhân làm cho cây sầu riêng bị thiệt hại, nguyên nhân thiếu nước ngọt để tưới là nguyên nhân chính [1]. Lần đầu tiên, nông dân trồng sầu riêng ở các huyện phía Tây tỉnh Tiền Giang phải chịu tổn thất do hạn mặn và thiệt hại rất nặng nề, cho thấy từ đây nước ngọt không còn là nguồn tài nguyên vô hạn nữa và nông dân phải biết cách chiu nguồn nước tưới và sử dụng nguồn nước theo hướng tiết kiệm, hiệu quả. Chế

độ tưới trên cây sầu riêng Monthong 13 năm tuổi cho thấy tưới 200 L/cây/ngày với chu kỳ (2-3) ngày/lần không ảnh hưởng đến chất khô của thịt trái sầu riêng so với tưới 200 L/cây/ngày với chu kỳ mỗi ngày [3]. Kết quả điều tra ngẫu nhiên 120 nông dân (40 nông dân/xã) trồng sầu riêng ở 03 xã Tam Bình, Long Trung và Hiệp Đức, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang cho thấy phương pháp tưới phun mưa dưới gốc được các hộ dân sử dụng nhiều nhất với tỷ lệ (97,50-100) % [4], tiết kiệm được (37,8-46) % lượng nước sử dụng so với biện pháp tưới thông thường [5]. Việc sử dụng hệ thống tưới phun mưa dưới gốc, tuy có tiết kiệm nước hơn so với phương pháp truyền thống nhưng vẫn tiêu tốn lượng nước ngọt (400-600) L/lần tưới [6], cao hơn so với nhu cầu sử dụng nước của cây sầu riêng và khi có xâm nhập mặn xảy ra, nước ngọt trở nên khan hiếm thì khó có thể đảm bảo đủ lượng nước ngọt tưới cho cây trong mùa khô.

Hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất là một kỹ thuật tưới mới, trong đó bộ khuếch tán có chức năng chính là tạo điều kiện thuận lợi cho việc thẩm thấu và lưu trữ nước tưới trong đất. Việc lưu trữ được thực hiện trong vùng chứa phần lớn hệ thống rễ của cây. Đối với việc tưới cây ăn quả, bộ khuếch tán được lắp đặt trong hố trước khi trồng cây, cách mặt đất từ (30-50) cm. Nếu các bộ khuếch tán được thêm vào sau khi trồng cây thì nên được lắp đặt ở các đầu của tán cây [7]. Nguyên lý tưới nước nhỏ giọt là nước được dẫn bằng các ống chuyên dụng và tưới trực tiếp vào gốc cây, giảm thiểu lượng nước thất thoát (thẩm thấu và bay hơi). Chính vì thế, có thể tiết kiệm trên 30 % lượng nước tưới cho cây sầu riêng so với phương pháp tưới truyền thống. Phương pháp tưới này được đánh giá mang lại hiệu quả và tiết kiệm nhất trong tất cả các hệ thống tưới hiện nay [8].

Nghiên cứu giải pháp tưới tiết kiệm nước thích ứng với xâm nhập mặn cho vườn cây sầu riêng ở xã Tam Bình, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang là nhiệm vụ khoa học và công nghệ cấp bách của tỉnh, trong đó hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất là kỹ thuật mới được áp dụng và đánh giá hiệu quả trên vườn cây sầu riêng giống Dona tại ấp Bình Ninh, xã Tam Bình, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang từ 12/2021 đến 12/2023. Đây là vườn sầu riêng đã bị thiệt hại 30 % do xâm nhập mặn

mùa khô 2019-2020. Năm đầu tiên (12/2021-12/2022), hai nghiệm thức được sử dụng: (i) nghiệm thức Vườn mô hình (Vườn MH) áp dụng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất với chế độ tưới tiết kiệm nước 64 L/cây/ngày và 96 L/cây/ngày từ 18/12/2021 đến 14/3/2022; (ii) nghiệm thức Vườn đối chứng (Vườn ĐC) áp dụng chế độ tưới 480 L/cây/ngày bằng hệ thống tưới phun mưa vào gốc sẵn có của nông dân. Kết quả cho thấy Vườn MH có sự phát triển chồi chính và chồi phụ chậm hơn và số lượng chồi non ít hơn so với Vườn ĐC. Với chế độ tưới tiết kiệm nước đến (80-86,67) % so với Vườn ĐC nhưng Vườn MH vẫn có số chùm hoa/cành, số hoa/cành, số trái/cây, khối lượng trái/cây và năng suất khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với Vườn ĐC. Mặt khác, chất lượng quả của Vườn MH có hàm lượng nước và hàm lượng acid thấp hơn, độ brix và hàm lượng vitamin C cao hơn so với Vườn ĐC [9]. Nghiên cứu giải pháp tưới tiết kiệm nước thích ứng với xâm nhập mặn cho vườn cây sầu riêng ở xã Tam Bình, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang tiếp tục được thực hiện năm thứ hai từ 01/2022-12/2023.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

Vật liệu được sử dụng trong quá trình nghiên cứu bao gồm: (i) Vườn cây sầu riêng ở xã Tam Bình, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang, diện tích 01 ha, giống Dona, 20 năm tuổi, hàng năm được xử lý ra hoa vụ nghịch (thu hoạch quả vào tháng 10 đến tháng 11, đã bị thiệt hại 30 % do xâm nhập mặn mùa khô 2019-2020, vào thời điểm thực hiện thí nghiệm năm đầu tiên (5/2021) cây đã tự phục hồi ra lá xanh trở lại (Hình 1); (ii) Hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất: Bộ tưới khuếch tán dưới mặt đất bao gồm một đầu tưới cung cấp 4 L nước/15 phút gắn vào một bộ khuếch tán được chôn cách mặt đất là 0,1 m và cách gốc khoảng 1,2 m. Bộ khuếch tán được chế tạo bằng vật liệu FRP kích thước (100 × 200 × 50) mm, bên trong lắp đầy bông khoáng để mao dẫn nước trong đất. Mỗi cây sầu riêng được lắp 4 bộ tưới khuếch tán vào gốc. Lưu lượng nước tưới cho mỗi cây sầu riêng được điều chỉnh bởi bộ điều khiển thời gian hoạt động của máy bơm từ đó điều khiển lượng nước tưới và thời gian tưới (Hình 2).



Hình 1 Vườn MH: (A) trong đợt hạn mặn (tháng 3/2020); (B) trước khi xây dựng mô hình (tháng 5/2021)



Hình 2 Bộ khuếch tán: (A) trước khi và (B) sau khi được chôn cách mặt đất 10 cm

Vào năm thứ 2 (từ 12/2022 đến 12/2023), tương tự như năm thứ 1, hai nghiệm thức được bố trí Vườn MH với 108 cây sầu riêng liền kề và Vườn ĐC với 108 cây sầu riêng liền kề. Vào mùa khô, đều áp dụng chế độ tưới tiết kiệm nước, trong đó: (i) Vườn MH áp dụng chế độ tưới 96 L/cây/ngày từ 14/01/2023 đến 25/01/2023 (khi coi đợt 1 thuần thực) và từ 09/3/2023 đến 20/3/2023 (khi coi đợt 2 thuần thực) bằng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất, thời gian còn lại tưới giống như nghiệm thức Vườn ĐC; (ii) Vườn ĐC áp dụng chế độ tưới tiết kiệm nước 120 L/cây/ngày, những ngày nắng nóng tưới thêm 60 L/cây vào buổi trưa lúc 13 h bằng hệ thống tưới phun mưa sẵn có của nông dân. Vào mùa mưa, Vườn MH và Vườn ĐC đều sử dụng hệ thống tưới phun mưa dưới gốc sẵn có của nông dân, chế độ tưới 120 L/cây/ngày vào ngày không mưa, 60 L/cây/ngày vào ngày mưa ít, không tưới vào ngày mưa nhiều. Các biện pháp canh tác khác đều giống nhau giữa Vườn MH và Vườn ĐC.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả nghiên cứu tưới tiết kiệm nước

Bảng 1 Ẩm độ đất tại Vườn MH và Vườn ĐC

Nghiệm thức	Ẩm độ đất tầng (0-20) cm (%)									
	lần 1	lần 2	lần 3	lần 4	lần 5	lần 6	lần 7	lần 8	lần 9	lần 10
Vườn MH	86,37	79,15	74,81	82,50	81,73	75,79	85,26	85,30	81,22	78,42
Vườn ĐC	85,30	80,64	73,28	83,04	83,98	76,50	86,04	84,08	83,55	78,16
T-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Ẩm độ đất tầng (20-40) cm (%)									
	lần 1	lần 2	lần 3	lần 4	lần 5	lần 6	lần 7	lần 8	lần 9	lần 10
Vườn MH	84,17	77,40	73,74	77,76	76,81	74,04	85,59	79,80	75,15	75,38
Vườn ĐC	83,54	80,28	71,68	79,97	75,00	75,60	84,53	79,32	76,54	73,90
T-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Ẩm độ đất tầng (40-60) cm (%)									
	lần 1	lần 2	lần 3	lần 4	lần 5	lần 6	lần 7	lần 8	lần 9	lần 10

Chọn rải đều 20 cây ở Vườn MH và 20 cây ở Vườn ĐC, treo bảng cố định đo đạc các chỉ tiêu sau: (i) Ẩm độ đất trong mùa khô: đo tại chỗ bằng máy đo ẩm độ đất cầm tay MC-7828 SOIL, vị trí đo là dưới tán cây ở điểm giữa 2 bộ khuếch tán (Vườn MH), cách gốc 1,2 m (Vườn ĐC), ở 3 tầng đất (0-20) cm; (20-40) cm, (40-60) cm, 10 ngày/lần bắt đầu từ 01/01/2023; (ii) Vào giai đoạn phát triển coi đợt, đo đạc các chỉ tiêu: chồi non (đếm số lượng chồi non), Chiều dài chồi chính (đo bằng thước), chiều dài chồi phụ (đo bằng thước), chiều dài lá (đo bằng thước), chiều rộng lá (đo bằng thước), 1 lần/tháng; (iii) Vào giai đoạn cây ra hoa, kết quả, theo dõi, đo đạc các chỉ tiêu: số chùm hoa/cành (đếm); số hoa/chùm (đếm); khối lượng trung bình của quả trên cây (kg/cây): (tổng khối lượng toàn bộ các quả trên cây) / (tổng số quả); số lượng quả trên cây: đếm hết số quả của mỗi cây; năng suất (kg/cây): cân toàn bộ số lượng quả của cây. Số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và phép thử Independent T-test để so sánh trung bình các chỉ tiêu theo dõi.

Vườn MH	84,11	77,22	78,54	82,46	76,46	71,70	84,78	80,04	76,89	76,74
Vườn ĐC	81,96	78,82	76,96	82,67	75,80	73,60	82,25	77,38	73,43	75,55
T-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Ghi chú: ns: không khác biệt ý nghĩa thống kê.

Kết quả Bảng 1 cho thấy ẩm độ đất đo ở 3 tầng đất tại Vườn MH và Vườn ĐC với 10 lần đo liên tiếp đều không khác biệt ý nghĩa thống kê, mặc dù Vườn MH có 2 khoảng thời gian 12 ngày/khoảng lượng nước tưới giảm thêm 20 % (96 L/cây/ngày) so với Vườn ĐC 120 L/cây/ngày, nhưng do nước được đưa trực tiếp vào vùng rễ bằng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất nên tránh được tổn thất nước, thông thường có thể tiết kiệm được (30-40) % lượng nước tưới so với phương pháp tưới phun mưa hay tưới tràn [9].

Kết quả ẩm độ đất vào mùa khô đo được ở cả 3 tầng đất của Vườn MH và Vườn ĐC đều dao động trong khoảng > (70-80) % là ẩm độ đất tương đối đáp ứng được cho sự sinh trưởng và phát triển của cây sầu riêng, theo Bahagian Hortikultur - Seksyen Buah-buahan (2009) đối với vườn sầu riêng (hơn 90 % tài liệu nghiên cứu đã được công bố) ẩm độ đất cần được duy trì ở mức tối thiểu là 80 % [10]. Kết quả này cho thấy giải pháp tưới tiết kiệm nước vào mùa khô (96-120) L/cây/ngày vẫn đảm bảo ẩm độ đất tương đối đáp ứng cho sinh trưởng của cây sầu riêng sau khi thu hoạch vụ nghịch, phù hợp

nghiên cứu của Jerapat and Siriphanich (2008) thực hiện tại Thái Lan trên sầu riêng Monthong 13 năm tuổi với lượng nước tưới 200 L/cây, (2-3) ngày tưới/lần là đủ đáp ứng nước cho cây sầu riêng [11] và phù hợp với kết quả nghiên cứu năm thứ nhất (12/2021 đến 12/2022) lượng nước tưới 96 L/cây/ngày bằng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất cho ẩm độ đất không khác biệt ý nghĩa thống kê so với cách tưới và lượng nước tưới của nông dân (480 L/cây/ngày bằng hệ thống tưới phun mưa vào gốc) [9]. Kết quả này cũng khẳng định nông dân có thể tưới tiết kiệm nước vào mùa khô bằng hệ thống tưới phun mưa vào gốc sẵn có với mức tưới 120 L/cây/ngày vẫn duy trì được ẩm độ đất đáp ứng cho sự sinh trưởng và phát triển của cây sầu riêng, đồng thời cho thấy cách tưới hiện hữu của nông dân vùng chuyên canh sầu riêng huyện Cai Lậy tỉnh Tiền Giang (từ (400-600) L/cây/lần tưới vào mùa khô, (15-18) lần tưới/tháng) [6], mức tưới 480 L/cây/ngày của Vườn ĐC vào năm thứ nhất là đang lãng phí nguồn nước ngọt khan hiếm trong mùa khô.

Bảng 2 Số chồi non và chiều dài chồi tại Vườn MH và Vườn ĐC

Thí nghiệm	Số chồi non (chồi/cành)			Chiều dài chồi chính (cm)			Chiều dài chồi phụ (cm)		
	lần 1	lần 2	lần 3	lần 1	lần 2	lần 3	lần 1	lần 2	lần 3
Vườn MH	26,07	29,21	33,18	15,48	17,15	22,46	6,89	7,25	12,59
Vườn ĐC	31,27	35,71	38,87	20,87	23,59	26,75	9,38	15,17	15,09
T-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Ghi chú: **: có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 %.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy Số chồi non, Chiều dài chồi chính, Chiều dài chồi phụ được đếm ở Vườn MH và Vườn ĐC đều khác biệt có ý nghĩa ở mức 1 %. Trong đó, Số chồi non được đếm ở Vườn MH lần 1 (26,07 chồi/cành), lần 2 (29,21 chồi/cành), lần 3 (33,18 chồi/cành) đều ít hơn so với số chồi non được đếm lần 1, 2, và 3 ở Vườn ĐC (31,27; 35,71; 38,87) chồi/cành. Chiều dài chồi chính được đo ở Vườn MH lần 1 (15,48 cm), lần 2 (17,15 cm), lần 3 (22,46 cm) đều ngắn hơn so với chiều dài chồi chính được đo lần 1, 2, và 3 ở Vườn ĐC (20,87 cm; 23,59 cm

và 26,75 cm). Chiều dài chồi phụ được đo ở Vườn MH lần 1 (6,89 cm), lần 2 (7,25 cm) và lần 3 (12,59 cm) đều ngắn hơn so với chiều dài chồi phụ được đo lần 1, 2, và 3 ở Vườn ĐC (9,38 cm; 15,17 cm và 15,09 cm).

Kết quả nghiên cứu tưới tiết kiệm nước năm thứ 1 (12/2021-12/2022) cho thấy, với chế độ tưới (64-96) L/cây/ngày từ 18/12/2021 đến 14/3/2022 bằng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất, Vườn MH có sự phát triển chậm hơn của chiều dài chồi chính, chiều dài chồi phụ và số lượng chồi non ít hơn so với Vườn ĐC

có chế độ tưới 480 L/cây/ngày bằng hệ thống tưới phun mưa vào gốc [9]. Nghiên cứu năm thứ 2 (12/2022 đến 12/2023) vẫn đạt được kết quả tương tự như năm thứ 1 mặc dù thời gian tưới tiết kiệm bằng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất được rút ngắn lại, không liên tục, đồng thời Vườn ĐC cũng áp dụng chế độ tưới tiết kiệm 120 L/cây/ngày. Điều này cho thấy mặc dù so sánh ẩm độ đất Vườn MH (hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất) và Vườn ĐC (hệ thống tưới phun mưa vào gốc) là không khác biệt ý nghĩa thống kê

(Bảng 1) nhưng kết quả sinh trưởng và phát triển của cây sầu riêng vẫn bị ảnh hưởng (Bảng 2), có thể do nhu cầu sinh trưởng và phát triển của cây sầu riêng cần có ẩm độ không khí cao (80-85) % [12] trong khi khác với với hệ thống tưới phun mưa vào gốc vừa cung cấp nước cho đất vừa làm tăng ẩm độ không khí trong vườn thì hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất chỉ cung cấp nước vào vùng rễ vào mùa khô làm cho ẩm độ không khí trong Vườn MH không đạt được mức tối ưu cho cây sinh trưởng và phát triển.

Bảng 3 Kích thước lá tại Vườn MH và Vườn ĐC

Thí nghiệm	Chiều dài lá (cm)			Chiều rộng lá (cm)		
	lần 1	lần 2	lần 3	lần 1	lần 2	lần 3
Vườn MH	14,57	15,19	15,63	4,47	4,56	4,70
Vườn ĐC	12,91	13,78	13,73	4,10	4,27	4,43
T-test	**	**	**	**	**	**

Ghi chú: **: có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 %.

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy chiều dài lá, chiều rộng lá của Vườn MH và Vườn ĐC đều khác biệt có ý nghĩa ở mức 1 %. Trong đó, Chiều dài lá được đo ở Vườn MH lần 1 (14,57 cm), lần 2 (15,19 cm) và lần 3 (15,63 cm) đều lớn hơn so với Chiều dài lá được đo ở Vườn ĐC được đo lần 1, 2, và 3 (12,91; 13,78; và 13,73 cm). Tương tự, Chiều rộng lá được đo ở Vườn MH lần 1 (4,47 cm), lần 2 (4,56 cm), và lần 3 (4,70 cm) đều lớn hơn so với Chiều rộng lá được đo ở Vườn ĐC lần 1, 2, và 3 tương ứng là (4,10; 4,27; và 4,43) cm.

Như vậy, mặc dù kết quả sinh trưởng và phát triển chồi cây sầu riêng Vườn MH bị chậm lại so với Vườn ĐC nhưng kích thước lá ở Vườn MH (chiều dài và chiều rộng) đều lớn hơn kích thước lá ở Vườn ĐC. Kích thước lá lớn hơn thì cây sẽ quang hợp nhiều hơn, cung cấp nhiều dinh dưỡng hơn cho cây. Đây là ưu điểm của tưới tiết kiệm nước trong bối cảnh xâm nhập mặn, thiếu nước ngọt để tưới thì tưới tiết kiệm nước trong mùa khô mặc dù làm chậm sinh trưởng nhưng lại làm tăng kích thước lá, như vậy có thể vẫn bảo toàn được năng suất cho cây sầu riêng.

Bảng 4 Năng suất quả và các thành phần năng suất

	Số chùm hoa/cành	Số hoa/chùm	Số quả/cây	Khối lượng quả trung bình (kg)	Năng suất (kg/cây)
Vườn MH	26,51	43,16	24,80	3,73	98,61
Vườn ĐC	21,90	43,31	16,05	3,47	61,23
T-test	**	ns	*	ns	**

Ghi chú: **: có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 %; *: có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5 %; ns: không khác biệt ý nghĩa thống kê.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy số chùm hoa/cành của Vườn MH và Vườn ĐC có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 %, trong đó số chùm hoa/cành của Vườn MH là 26,51 nhiều hơn số chùm hoa/cành của Vườn ĐC là 21,90. Số hoa/chùm của Vườn MH (43,16) và Vườn ĐC (43,31) không khác biệt ý nghĩa thống kê.

Kết quả Bảng 4 cũng cho thấy, số trái trên cây của Vườn MH (24,80) nhiều hơn và có khác biệt ý nghĩa thống kê ở

mức 5 % số trái trên cây của Vườn ĐC (16,05) trong khi đó khối lượng trái trung bình 3,73 kg (Vườn MH) và 3,47 kg (Vườn ĐC) không khác biệt ý nghĩa thống kê. So sánh năng suất giữa Vườn MH và Vườn ĐC thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 %, Vườn MH đạt được năng suất 98,61 kg/cây cao hơn năng suất Vườn ĐC 61,23 kg/cây. Kết quả Bảng 4 cũng cho thấy, số trái trên cây của Vườn MH (24,80) nhiều hơn và có khác biệt ý nghĩa thống kê ở

mức 5 % số trái trên cây của Vườn ĐC (16,05), trong khi đó khối lượng trái trung bình 3,73 kg (Vườn MH) và 3,47 kg (Vườn ĐC) không khác biệt ý nghĩa thống kê. So sánh năng suất giữa Vườn MH và Vườn ĐC thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 %, Vườn MH đạt được năng suất 98,61 kg/cây cao hơn năng suất Vườn ĐC 61,23 kg/cây. So sánh với kết quả nghiên cứu của năm thứ 1 thì ở năm thứ 2, kết quả tương tự là Vườn MH có số hoa/ chùm và khối lượng quả trung bình không khác biệt ý nghĩa thống kê, điểm khác biệt là tổng số quả trên cây có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5 % và năng suất quả có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1 % so với Vườn ĐC. Như vậy, tưới tiết kiệm nước trong mùa khô ở mức 96 L/cây/ngày (giảm 20 % lượng nước so với đối chứng) bằng hệ thống nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất vào các khoảng thời gian coi đợt đã thuần thực có khả năng làm gia tăng kích thước lá và tăng năng suất quả.

Nghiên cứu về mô hình tưới nước tiết kiệm cho sầu riêng đã ghi nhận được kết quả là giảm chi phí cho máy bơm từ 2 333 USD còn 1 041 USD, đồng thời giảm lượng nước tưới từ 1 000 L/cây/lần tưới xuống còn 90 L/cây/lần tưới, nhưng vẫn đảm bảo năng suất, chất lượng sầu riêng [13, 14]. Trên một số loại cây trồng khác đã được nghiên cứu áp dụng hệ thống tưới nhỏ giọt thì kết quả cho thấy kỹ thuật tưới nhỏ giọt có thể tiết kiệm được 50 % lượng nước tưới so với tưới phun mưa trong khi năng suất cả phê (tích lũy 2 năm) không có sự khác biệt giữa 2 phương pháp tưới [15].

3.2. Giải pháp vét mương, đào ao trữ nước kết hợp sử dụng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất

Vét mương trữ nước ngọt: sau khi thu hoạch quả vụ nghịch vào tháng 11 đến tháng 12 hàng năm, phải vét toàn bộ mương vườn, tận dụng tối đa sức chứa của mương vườn để trữ nước ngọt. Lượng nước trữ trong các mương vườn chỉ dùng cho việc giữ nước chân, ém phèn trong mùa khô, không đủ dùng để tưới cây. Cần

phải giữ nước chân trong mương vườn tối thiểu 30 cm trên tầng phèn tiềm tàng. Nếu mùa khô kéo dài, nước trong mương vườn bị khô cạn thì phải bổ sung nước (có thể sử dụng nguồn nước bị nhiễm mặn trong trường hợp lượng nước ngọt dự trữ không đủ).

Đào ao trữ nước: vườn cây sầu riêng có diện tích 1 ha, khoảng cách trồng 8 m × 10 m (125 cây/ha), lượng nước tưới 96 L/cây/ngày, thời gian mùa khô 4 tháng (120 ngày), thể tích nước ngọt cần trữ để tưới cho vườn là: $(96 \text{ L/cây/ngày} \times 120 \text{ ngày} \times 125 \text{ cây})/1\,000 = 1\,440 \text{ m}^3$, thể tích nước này chưa tính đến lượng nước bốc hơi trong quá trình lưu trữ. Với độ sâu ao là 3 m, diện tích ao nếu chưa tính đến lượng nước bay hơi trong quá trình lưu trữ là: $1\,440 \text{ m}^3/3 \text{ m} = 480 \text{ m}^2$. Theo Tổng cục thủy lợi (2021), lượng nước bốc hơi bề mặt vườn cây trung bình trong các tháng mùa khô ở Tiền Giang là 4,55 mm/ngày, vậy với diện tích ao 480 m² thì lượng nước bốc hơi bề mặt ao trong 4 tháng mùa khô là: $480 \text{ m}^2 \times 0,00455 \text{ m/ngày} \times 120 \text{ ngày} = 262 \text{ m}^3$. Do đó cần thiết kế ao trữ được tối thiểu: $1\,440 \text{ m}^3 + 262 \text{ m}^3 = 1\,702 \text{ m}^3$. Sử dụng bảng tra dung tích ao/hồ theo diện tích và độ sâu của Tổng cục Thủy lợi (2021) thì cần thiết kế ao có diện tích 1 000 m² và độ sâu 4 m [16]. Điểm lưu ý trong thực tiễn sản xuất, muốn bơm được nước, cần phải có độ cao dôi dư để máy bơm hút, như vậy, cần độ sâu phải lớn hơn tính toán, hoặc đào một cái rón ao sâu để có chỗ cho vôi hút.

Hệ thống nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất: hệ thống nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất với các nghiên cứu đã được thực hiện cho thấy đây là công cụ tưới tiết kiệm nước có hiệu quả nhất trong trường hợp xâm nhập mặn xảy ra, nguồn nước ngọt tưới cây bị hạn chế. Do gần như 100 % vườn sầu riêng ở Cai Lậy đã được nông dân lắp đặt hệ thống tưới phun mưa vào gốc [6] nên hệ thống nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất có thể được tích hợp thêm vào với chi phí hợp lý (Bảng 5).

Bảng 5 Bảng tính khẩu hao hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán một héc-ta sầu riêng (trường hợp lắp đặt thêm bộ khuếch tán vào hệ thống tưới phun mưa sẵn có)

STT	Chủng loại	Số lượng	Đơn giá (đồng)	Thành tiền (đồng)
1	Vỏ composite bộ khuếch tán và các phụ kiện	500 bộ	3 200 000	3 200 000
2	Ống LDPE 25 mm dày 1,2 mm	780 m	40 000	20 000 000
3	Ống LDPE 6,5 mm	1 335 m	7 000	5 460 000

4	Phụ kiện PVC và LDPE	1 bộ	2 000	2 670 000
5	Van khóa hệ thống tưới phun mưa	1 000 m ²	1 425 000	1 425 000
6	Công lắp đặt			10 000 000
	Tổng chi phí			44 555 000
	Khấu hao hàng năm (Thời gian sử dụng 10 năm)			4 455 500

4 Kết luận và đề xuất

Áp dụng hệ thống tưới khuếch tán dưới mặt đất với mức tưới 96 L/cây/ngày (giảm thêm 20 % lượng nước tưới so với đối chứng tưới tiết kiệm 120 L/cây/ngày) vào các khoảng thời gian coi đợt đã thuận thực cho kết quả ẩm độ đất ở Vườn MH và Vườn ĐC tương đương nhau, dao động trong khoảng > (70-80) %; về sinh trưởng thì cây ở Vườn MH phát triển chậm hơn với số chồi non, chiều dài chồi chính, chiều dài chồi phụ đều thấp hơn so với Vườn ĐC nhưng ngược lại kích thước lá cả chiều dài và chiều rộng ở Vườn MH đều lớn hơn so với Vườn ĐC. Kết quả cuối cùng đạt được là tổng số quả trên cây của Vườn MH (24,80) nhiều hơn so với Vườn ĐC (16,05) và năng suất quả (98,61 kg/cây) cao hơn so với Vườn ĐC (61,23 kg/cây).

Giải pháp vét mương trữ nước, đào ao trữ nước kết hợp sử dụng hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới

mặt đất với mức tưới 96 L/cây/ngày (đưa nước ngọt trực tiếp vào vùng rễ, tránh thất thoát do bốc hơi, chảy tràn) đảm bảo đủ nước ngọt tưới cho vườn cây trong trường hợp mùa khô bị xâm nhập mặn, giúp cây sầu riêng vẫn sống, sinh trưởng, phát triển, ra hoa, kết quả vụ nghịch, không bị giảm năng suất, đồng thời mở ra cơ hội cải thiện chất lượng quả tốt hơn. Mặt khác, hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất có thể được tích hợp vào hệ thống tưới phun mưa sẵn có tại các nông hộ với chi phí hợp lý. Tuy nhiên, cần tiếp tục nghiên cứu tối ưu hóa hệ thống tưới tiết kiệm nước để giảm chi phí đầu tư trên một hecta sầu riêng, từ đó mở rộng khả năng ứng dụng hệ thống. Kết quả này có ý nghĩa đặc biệt về kinh tế – xã hội trong trường hợp nước ngọt tưới cây trở nên khan hiếm, giúp nông dân trồng sầu riêng chủ động bảo vệ vườn cây, thích ứng lâu dài với xâm nhập mặn.

Tài liệu tham khảo

1. Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Tiền Giang. (2020). Báo cáo tình hình sản xuất, xâm nhập mặn và các giải pháp phục hồi cây sầu riêng sau hạn, xâm nhập mặn. *Hội thảo “Giải pháp khôi phục cây sầu riêng sau hạn, xâm nhập mặn” do Sở Nông nghiệp và PTNT Tiền Giang phối hợp với Ủy ban Nhân dân huyện Cai Lậy tổ chức tại huyện Cai Lậy ngày 08/6/2020.*
2. Võ Hữu Thoại. (2020). Các giải pháp trong canh tác cây ăn quả vùng Đồng bằng sông Cửu Long ứng phó với hạn mặn. *Hội thảo “Giải pháp khôi phục cây sầu riêng sau hạn, xâm nhập mặn” do Sở Nông nghiệp và PTNT Tiền Giang phối hợp với Ủy ban Nhân dân huyện Cai Lậy tổ chức tại huyện Cai Lậy ngày 08/6/2020.*
3. Jerapat, S. & Siriphanich, J. (2008). Effect of irrigation on dry matter of durian pulp cv. Monthong. *Acta Hort.* 768, 251-255. DOI: 10.17660/ActaHortic.2008.768.31.
4. Lê Nhật Phàm, Nguyễn Trường Duy, Đỗ Thanh Nhân. (2020). Điều tra ảnh hưởng của xâm nhập mặn năm 2020 đến vườn sầu riêng tại 3 xã Tam Bình, Long Trung và Hiệp Đức, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang. (Khóa luận tốt nghiệp đại học). *Trường Đại học Tiền Giang.*



5. Ưông Huy Hiệp. (2020). Áp dụng công nghệ tưới tiết kiệm nước cho cây sầu riêng tỉnh Bình Phước. <https://pim.vn/ap-dung-cong-nghe-troi-tiet-kiem-nuoc-cho-cay-sau-rieng-o-tinh-binh-phuoc/>, truy cập ngày 24/7/2022.
6. Lê Hữu Hải, Nguyễn Hồng Thủy. (2022). Đánh giá hiện trạng sản xuất, ảnh hưởng của xâm nhập mặn mùa khô 2020 và các biện pháp ứng phó của vùng chuyên canh sầu riêng ở ba xã Tam Bình, Long Trung và Hiệp Đức của huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Tiền Giang*, số 12/2022.
7. Chahbani Technologies. (2020). The Buried Diffuser-A real innovation for an efficient irrigation. www.chahtech.com. Accessed 10 September, 2021.
8. ICU. (2021). The Buried Diffuser: an underground water-saving irrigation system. <https://www.icu.it/en/progetti/the-buried-diffuser-an-underground-water-saving-irrigation-system/>. Accessed 19 October, 2023.
9. Nguyễn Hồng Thủy, Hà Thị Tuyết Phượng, Phan Thị Hồng Ngọc, Nguyễn Lê Việt Cường, Nguyễn Thị Trần Dung, Nguyễn Tuấn Phong, Lê Hữu Đạt. (2023). Đánh giá hiệu quả của hệ thống tưới nhỏ giọt khuếch tán dưới mặt đất trên vườn cây sầu riêng (*Durio zibethinus*) ở huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang. *Kỷ yếu Hội thảo Khoa học cấp Quốc gia “Nông nghiệp bền vững vì an ninh lương thực và an toàn thực phẩm năm 2023”* (ISBN: 978-604-72-6624-2). Nhà xuất bản Công an Nhân dân.
10. Bahagian Hortikultur - Seksyen Buah-buahan (2009). Manual Tanaman Durian (*Durio zibethinuss* Murr.), pp 1-38. Putrajaya: Jabatan Petanian Malaysia.
11. Jerapat S. and Siriphanich J. (2008). Effect of irrigation on dry matter of durian pulp cv. Monthong. DOI:10.17660/ActaHortic.2008.768.31, In: XXVII International Horticultural Congress - IHC2006: International Symposium on The Role of Postharvest Technology in the Globalisation of Horticulture.
12. Nguyễn Bảo Vệ. (2023). Kết quả đánh giá khả năng thích nghi của cây sầu riêng trong vùng thực hiện đề án. *Hội thảo khoa học “Đánh giá khả năng thích nghi của cây sầu riêng trong vùng đề án chuyển đổi cơ cấu cây trồng vật nuôi khu vực phía bắc Quốc lộ 1 tỉnh Tiền Giang và sơ kết đề án đến năm 2022”*. Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Tiền Giang tổ chức tại huyện Cai Lậy ngày 15/02/2023.
13. EECI - Eastern Economic Corridor of Innovation. (2022). When Technology Alter Perspectives of Durian Farmer. In: <https://www.eeci.or.th/en/news/local-wisdom-when-technology-alter-perspectives-of-durian-farmer-2/>, accessed on July 15, 2022.
14. FFTC - Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region. (2022). In: <https://ap.ffmpeg.org.tw/article/2647>, accessed on July 15, 2022.
15. Snoeck, J. (1988). “Cultivation and harvesting of robusta”. *Coffee, Vol. 4: Agronomy, Elsevier Applied Science, London and New York*.
16. Tổng cục thủy lợi. (2021). *Tài liệu Hướng dẫn tạm thời kỹ thuật trữ nước, tưới hiệu quả cho cây ăn trái vùng Đồng bằng sông Cửu Long áp dụng trong điều kiện xâm nhập mặn mùa khô năm 2020-2021*. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Research on solutions to adapt to saltwater intrusion for durian gardens in Tam Binh commune, Cai Lay district, Tien Giang province

Nguyen Hong Thuy

Tien Giang University, 119 Ap Bac, Ward 5, My Tho city, Tien Giang province, Viet Nam

nguyenhongthuy@tgu.edu.vn

Abstract Saltwater intrusion during the 2020 dry season caused heavy damage to nearly 4,459 hectares (out of a total of 14,870 hectares) of durian in Tien Giang province. The lack of fresh water for irrigation was the main cause of the damage. The underground diffused drip irrigation system is a new irrigation technique which is considered to be the most effective and economical of all current irrigation systems. Application of the underground diffused irrigation system with an irrigation level of 96 L/tree/day, which is 20 % less than the control (with water saving of 120 L/tree/day) during the mature shoot growth period resulted in similar soil moisture in the MH Garden and the DC Garden, fluctuating between > (70-80) %. In terms of growth, the trees in the MH Garden developed more slowly with the number of young shoots, the length of the main shoot, and the length of the secondary shoots all being lower than in the DC Garden. On the contrary, the leaf size in both length and width in the MH Garden was larger than in the DC Garden. The final result was that the total number of fruits per tree in MH Garden (24.80) was higher than DC Garden (16.05) and the fruit yield (98.61 kg/tree) was higher than DC Garden (61.23 kg/tree). On the other hand, underground diffused drip irrigation systems can be integrated into existing sprinkler irrigation systems at farmers at a reasonable cost. This result has special socio-economic significance in case fresh water for irrigation becomes scarce, thus helping durian farmers proactively protect their gardens and adapt long-term to saltwater intrusion.

Keywords Durian, saltwater intrusion, water saving irrigation, productivity, quality

Nghiên cứu, thiết kế và chế tạo máy đóng gói sản phẩm dạng bột với năng suất 200 gói/giờ

Hồ Văn Dũng^{1,*}, Khương Anh Sơn¹, Võ Công Anh¹, Lê Thị Kim Anh¹,
Trương Ngọc Cường², Ngô Xuân Cường³

¹Khoa Cơ khí và Công nghệ, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

²Khoa Cơ khí, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Kỹ thuật và Công nghệ, Đại học Huế

*hovandung@huaf.edu.vn

Tóm tắt

Hiện nay, thị trường có nhiều loại máy đóng gói sản phẩm cho các loại sản phẩm bột rau củ, bột ngũ cốc, gia vị,... phù hợp cho các sản phẩm dạng khối hoặc bao bì. Trong quá trình sản xuất tại các nhà máy hay khu công nghiệp, khâu định lượng và đóng gói rất quan trọng. Nghiên cứu này trình bày quá trình thiết kế và chế tạo một máy đóng gói sản phẩm dạng bột kiểu đứng, trong đó từng sản phẩm di chuyển liên tục, đều đặn, không thay đổi tốc độ trong quá trình đóng gói. Máy có kích thước (1 650 × 540 × 600) mm, nặng khoảng 45 kg và có thể đóng gói được tối đa (150-200) sản phẩm trong 1 giờ. Sản phẩm dạng bột được đóng gói có dạng bao bì với kích thước dài × rộng × bề dày là (115 × 60 × 8) mm, với bộ phận gia nhiệt đạt từ (140-160) °C. Hệ thống sử dụng PLC (Programmable Logic Controller) Siemens S7 1200 làm bộ điều khiển trung tâm, màn hình HMI cảm ứng cho quá trình vận hành. Mô hình máy được dùng để làm mô hình các giáo viên giảng dạy thực hành, thực tập và sinh viên các ngành kỹ thuật cơ khí và cơ điện tử có thể tham khảo học tập.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

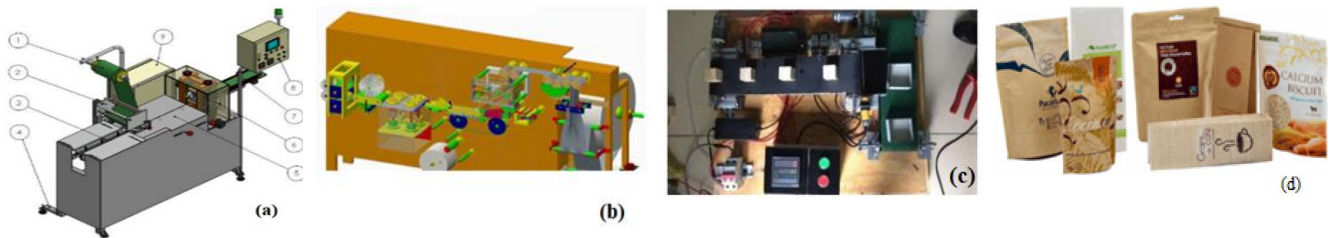
Nhận 04/09/2024
Được duyệt 10/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
Máy đóng gói, gia
nhiệt, Loadcell,
PLC Siemens S7,
Tia Portal V18

1 Đặt vấn đề

Ngày nay, tự động hóa đã trở thành xu hướng toàn cầu trong ngành sản xuất. Nhờ thành công của Nhật Bản và các nền công nghiệp châu Âu, ngày càng nhiều công ty trên thế giới đang chuyển sang áp dụng tự động hóa [1]. Đóng gói sản phẩm là công đoạn có ý nghĩa vô cùng quan trọng trong sản xuất đặc biệt là máy đóng gói các bột rau củ, bột ngũ cốc, bột gia vị. Trong quá trình phát triển khoa học công nghệ, các công ty xí nghiệp tại Việt Nam đang có xu hướng đầu tư mạnh mẽ vào tự động hóa sản xuất để nâng cao năng suất. Tại Việt Nam, đã nghiên cứu, thiết kế và chế tạo thành công máy đóng

gói bột dạng nằm ngang với kích thước (1 620 × 620 × 150) mm, đạt năng suất (40-200) sản phẩm trong mỗi phút [1]; thiết kế máy xếp và đóng gói bánh răng nhỏ dùng trong động cơ Servo có kích thước (750 × 400 × 100) mm với năng suất đóng gói là (5-6) sản phẩm/phút [2]; Nhóm đã có kinh nghiệm sau khi đã chế tạo cụm diệt khuẩn cho máy đóng gói khăn lạnh bằng công nghệ plasma lạnh. Kết quả cho thấy, cụm diệt khuẩn có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Qua kinh nghiệm đó, đề xuất chế tạo máy đóng gói dạng bộ kiểu đứng [3]; ngoài ra, còn chế tạo máy đóng gói cho hệ thống sử dụng bộ điều khiển PLC S7 Siemens [4].

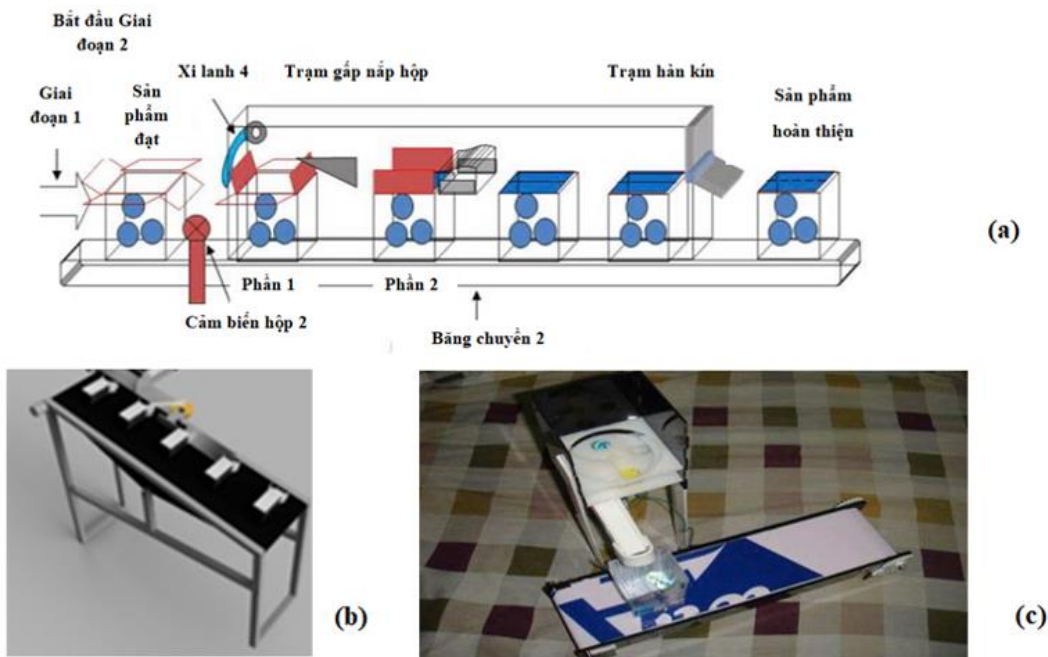


Hình 1 Một số nghiên cứu máy đóng gói ở Việt Nam

- (a) - Mô hình máy đóng gói nằm ngang [1]; (b)- Mô hình hệ thống diệt khuẩn bằng plasma và kết hợp cơ cấu máy đóng gói [2]; (c)- Mô hình phân loại và đóng gói sản phẩm bằng PLC Siemens [4]
(d)- Các loại bao bột nguyên liệu có trên thị trường [1]

Hiện nay, đã có nhiều nghiên cứu về thiết kế, chế tạo, mô hình hóa và tính toán các thông số kỹ thuật cũng như động học của máy đóng gói sản phẩm: mô hình máy đóng gói dạng đứng, với cơ cấu đỡ nguyên vật liệu qua phễu và hệ thống cân định lượng bằng loadcell, tiếp theo là quá trình gia nhiệt [5]; thiết kế và mô phỏng máy đóng gói hạt giống rau củ quả, tuy nhiên chỉ dừng lại ở việc thiết kế và mô phỏng các chi tiết bằng phần mềm Ansys để xem ứng suất và chuyển vị các chi tiết khi đặt các thông số đầu vào [6]; thiết kế mô phỏng hệ thống đóng nắp chai tự động [7]; thiết kế và chế tạo mô hình đóng gói điều khiển bằng chương trình điều khiển Arduino [8].

Dựa trên tổng quan nghiên cứu về thiết kế máy đóng gói ở Việt Nam và trên thế giới, có thể thấy rằng việc thiết kế dựa trên phần mềm Sketch up để vẽ mô hình 3D sử dụng phần mềm và chương trình điều khiển bằng phần mềm TIA PORTAL vẫn chưa được nghiên cứu và triển khai thực hiện. Do đó, mục đích của nghiên cứu này thiết kế và chế tạo một máy đóng gói sản phẩm bột rau củ dạng đứng với kích thước máy ($1\,650 \times 540 \times 600$) mm. Đồng thời, máy này được sử dụng để phục vụ công tác nghiên cứu, giảng dạy và học tập của tại Khoa Cơ khí và Công nghệ tại Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.



Hình 2 Một số nghiên cứu máy đóng gói trên thế giới

- (a)- Mô tả quá trình đóng gói [5]; (b)- Mô phỏng mô hình đóng nắp chai [6] ; (c)- Mô hình đóng gói điều khiển bằng chương trình điều khiển Arduino [7].

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Yêu cầu kỹ thuật của máy

2.1.1 Tiêu chí của máy

- Máy cần được thiết kế để đáp ứng các tiêu chí sau:
- Hoạt động ổn định theo tín hiệu điều khiển, tốc độ đóng gói bột rau củ từ (100-200) gói mỗi giờ.
- Đảm bảo quá trình đóng gói bao bì thực hiện chính xác, theo đúng số lượng và khối lượng đã cài đặt.
- Các bộ phận cơ khí có thể tháo lắp dễ dàng và thuận tiện cho bảo trì bảo dưỡng.
- Đóng gói được các sản phẩm dạng bột như gia vị, các loại đậu, ...

2.1.2 Thông số kỹ thuật của máy

Máy có các thông số kỹ thuật như sau:

- Kích thước máy: (1 650 × 540 × 600) mm
- Phạm vi khối lượng mỗi gói bột (trong nghiên cứu này dùng bột rau má) cấp liệu: (50-100) g
- Nguồn điện: 220 V, 50/60 Hz, 1 pha, công suất 1,5 kW
- Nguồn khí nén: 0,65 MPa; 0,3 m³
- Độ rộng đường hàn nhiệt: (6-8) mm
- Vật liệu khung máy: inox SUS304

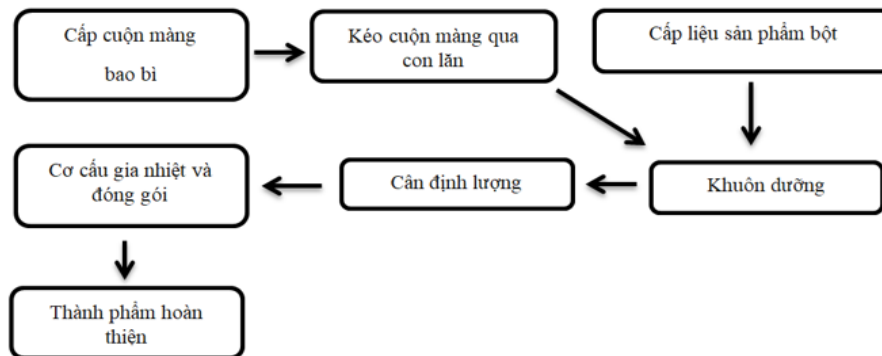
2.2 Kích thước bao bì đóng gói

Máy được thiết kế để đóng gói các sản phẩm bột rau củ

với trọng lượng bột được thiết lập bằng cơ cấu Loadcell cho mỗi gói bột, còn năng suất đóng gói được cài đặt nhờ phần mềm Tia Portal V18. Bao gói có hình dạng chữ nhật và gồm ba đường hàn: hai đường hàn ở đầu gói và một đường dọc theo chiều dài. Chất liệu bao gói là màng nhựa polyethylen (PE) dạng cuộn có đường kính từ (150-200) mm. Bề rộng của các mép hàn là (6-8) mm, với độ sai lệch cho phép là 0,5 mm. Nhiệt độ hàn cần thiết là khoảng (140-160) °C [9].

2.3 Các phương án thiết kế

Quy trình đóng gói sản phẩm của máy được mô tả như Hình 4. Trước hết, màng bao bì được cung cấp từ cuộn màng và kéo qua hệ thống con lăn để chuẩn bị cho việc đóng gói sản phẩm. Sau đó, sản phẩm bột sẽ được cấp vào từ phễu nạp liệu, khi máy vận hành, xi lanh mở phễu sẽ kích hoạt, cho phép nguyên liệu rơi xuống khay. Tại đây, khối lượng của mỗi phần được cân một cách chính xác để đảm bảo đóng gói đúng khối lượng cân. Khi đủ khối lượng đã cài đặt, xi lanh mở phễu đóng lại, xi lanh đẩy liệu sẽ kích hoạt, đưa nguyên liệu xuống máng dẫn rồi rơi vào ống khuôn dưỡng để đảm bảo mỗi gói có hình dạng đồng nhất. Cuối cùng, sản phẩm đi qua cơ cấu hàn nhiệt, sẽ làm nóng và hàn kín bao bì lại, tạo thành gói sản phẩm hoàn chỉnh và đi ra ngoài [10].



Hình 3 Quy trình công nghệ đóng gói sản phẩm dạng bột

Có hai phương án đóng gói sản phẩm:

Phương án 1: máy đóng gói hoạt động theo nhịp. Trong phương án này, máy vận hành theo nhịp sản xuất được điều khiển bởi ly hợp. Do hoạt động theo nhịp, lực căng của cuộn bao gói thay đổi liên tục, nên cần có cơ cấu điều hòa lực căng để đảm bảo máy vận hành chính xác. Ưu điểm của thiết kế này là hệ thống điều khiển đơn giản: mỗi khi cảm biến quang phát hiện vạch định vị,

bộ điều khiển sẽ phát lệnh cấp liệu, hàn dọc bao và hàn hai đầu bao bằng thanh kẹp mà không cần sử dụng con lăn.

Phương án 2: máy đóng gói hoạt động liên tục. Máy đóng gói hoạt động liên tục là phương án phổ biến nhờ khả năng đạt năng suất cao. Tuy nhiên, một nhược điểm của hệ thống này là thường xuất hiện sai số tại vị trí cắt giữa các gói. Sau khi phân tích, phương án 2 được lựa

chọn để thiết kế máy đóng gói vì trong sản xuất hiện đại, việc nâng cao năng suất là yếu tố quan trọng.

2.4 Cơ sở tính toán

Khi thiết kế và chế tạo máy đóng gói, việc xây dựng cơ sở tính toán chính xác đóng vai trò quan trọng trong việc đảm bảo hiệu quả vận của máy. Cơ sở tính toán này bao gồm các yếu tố như: tốc độ băng chuyền tốc độ, công suất băng tải, khối lượng vật liệu trên băng tải, cường độ căng đai, công suất cần thiết để di chuyển sản phẩm trên băng tải và công suất được xác định bởi trục quay. Các đại lượng này được tính toán dựa theo các công thức trong nghiên cứu [5, 9-11].

- Tốc độ băng chuyền dây đai được xác định bằng công thức (1):

$$V = \frac{\pi \times N \times D}{60} \quad (1)$$

Trong đó:

V: vận tốc của băng chuyền (m/s)

D: đường kính của con lăn trống (m)

N: tốc độ của động cơ kéo màng (rpm)

- Công suất băng tải được tính toán sử dụng công thức (2):

$$B.C = 3.6 \times A \times \rho \times V \quad (2)$$

Trong đó:

B.C: khả năng chứa của băng tải (tấn)

A: diện tích cắt của băng tải (m²)

ρ : khối lượng riêng của vật liệu cần chuyển (N/m³)

V: vận tốc của băng tải (m/s)

- Khối lượng vật liệu trên băng tải được xác định theo công thức (3)

$$Q = C \times 3.6 \times V \quad (3)$$

Trong đó:

Q: khối lượng của vật liệu (kg)

C: khả năng tải của dây đai (1·10³ kg/h)

V: vận tốc của dây đai (m/s)

- Cường độ căng đai của băng tải được xác định theo công thức (4):

$$T_e = T_x + T_y + T_z + T_u \quad (4)$$

Trong đó:

T_e : lực căng đai (N)

T_x : lực căng để dịch chuyển phần băng tải trống (N)

T_y : lực căng để di chuyển hàng sản phẩm theo phương ngang (N)

T_z : lực căng để nâng hoặc hạ sản phẩm theo phương thẳng đứng (N)

T_u : lực căng để thắng được sự cản trở của nguyên vật liệu (N)

- Công suất cần thiết để di chuyển sản phẩm trên băng tải được xác định theo (5).

$$P_p = \frac{T_e \times V}{33000} \quad (5)$$

Trong đó:

P_p : công suất cần thiết tại để cung cấp cho băng tải hoạt động (Hp)

V: tốc độ băng tải (m/s)

T_e : sức căng của băng tải (N)

- Công suất được xác định bởi trục quay được tính toán theo công thức (6).

$$P = \frac{2 \times \pi \times N \times T}{60} \quad (6)$$

Trong đó:

P: công suất xác định bởi trục quay (W)

N: tốc độ của trục (rpm)

T: mô men xoắn của trục pulley (N.m)

- Công suất truyền cho dây đai được xác định bằng phương trình số (7).

$$P = (T_1 - T_2) \times v \quad (7)$$

Trong đó:

P: công suất truyền cho dây đai (W)

T_1 : lực căng ở của dây đai chịu tải trọng vật liệu (N)

T_2 : lực căng ở dây đai bị lỏng không tải vật (N)

v: vận tốc của dây đai (m/s)

- Tốc độ của trục được xác định bằng phương trình số (8).

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{D_2}{D_1} \quad (8)$$

Trong đó:

N_1 : tốc độ của động cơ kéo màng bao (rpm)

N_2 : tốc độ của trục gắn pulley (rpm)

D_1 : đường kính của động cơ gắn pulley (mm)

D_2 : đường kính của trục kéo (mm)

- Lực căng tối đa tác dụng lên dây đai được xác định bằng phương trình (9)

$$T = \sigma \times A \quad (9)$$

Trong đó:

- Lực căng tối đa tác dụng lên dây đai được xác định bằng phương trình (9)

σ : ứng suất cho phép tính bằng (N/mm²)

A: diện tích mặt cắt ngang của dây đai tính bằng (mm²)



- Lực ly tâm của búa được trình bày trong phương trình (10).

$$F_c = \frac{m \times v^2}{R} \quad (10)$$

trong đó:

F_c : lực ly tâm của trục chính (N)

m : khối lượng của trục chính (kg)

v : vận tốc của trục chính (m/s)

R : bán kính của trục trục chính (m)

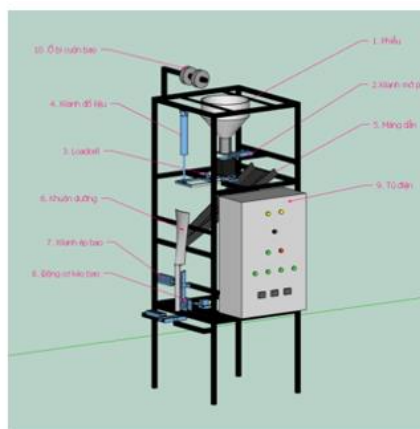
3 Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1 Thiết kế mô hình máy

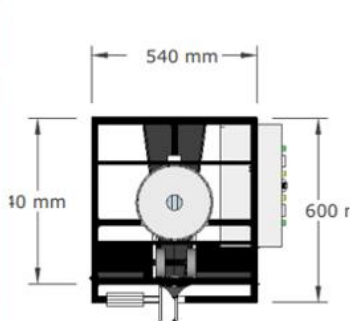
Mô hình 3D của máy đóng gói sản phẩm dạng thẳng đứng, được thiết kế bằng phần mềm Sketchup, được trình bày trong Hình 5. Máy bao gồm các thành phần chính như phễu nạp liệu, xilanh mở phễu, cân phân tích,

máng dẫn, khuôn dưỡng, xilanh ép bao, động cơ kéo bao, tủ điện và ổ bi, như thể hiện trong Hình 5-a. Mặt trên và mặt trước của máy được mô tả tương ứng trong Hình 5-b và Hình 5-c.

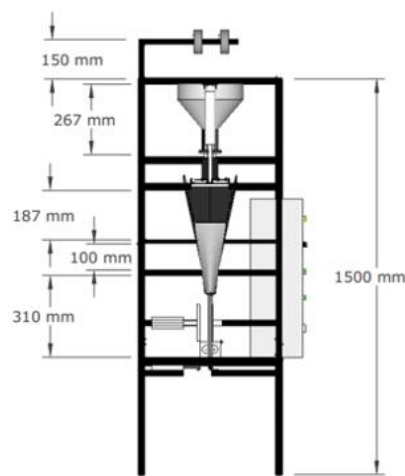
Về nguyên tắc hoạt động, nguyên liệu sẽ được cấp vào từ phễu nạp liệu, khi máy vận hành, xilanh mở phễu sẽ kích hoạt, cho phép nguyên liệu rơi xuống khay. Tại đây, khối lượng của mỗi phần được đo lường chính xác để đảm bảo đóng gói đúng khối lượng cân định lượng. Khi đã đủ khối lượng đã cài đặt, xi lanh mở phễu đóng lại, xi lanh đổ liệu sẽ kích hoạt, đưa nguyên liệu xuống máng dẫn rồi rơi vào ống khuôn dưỡng để đảm bảo mỗi gói có hình dạng đồng. Tại đây, bao được uốn theo hình dáng phù hợp rồi đưa qua cặp bánh răng ép tạo nếp để kéo đến xilanh ép bao.



(a)



(b)

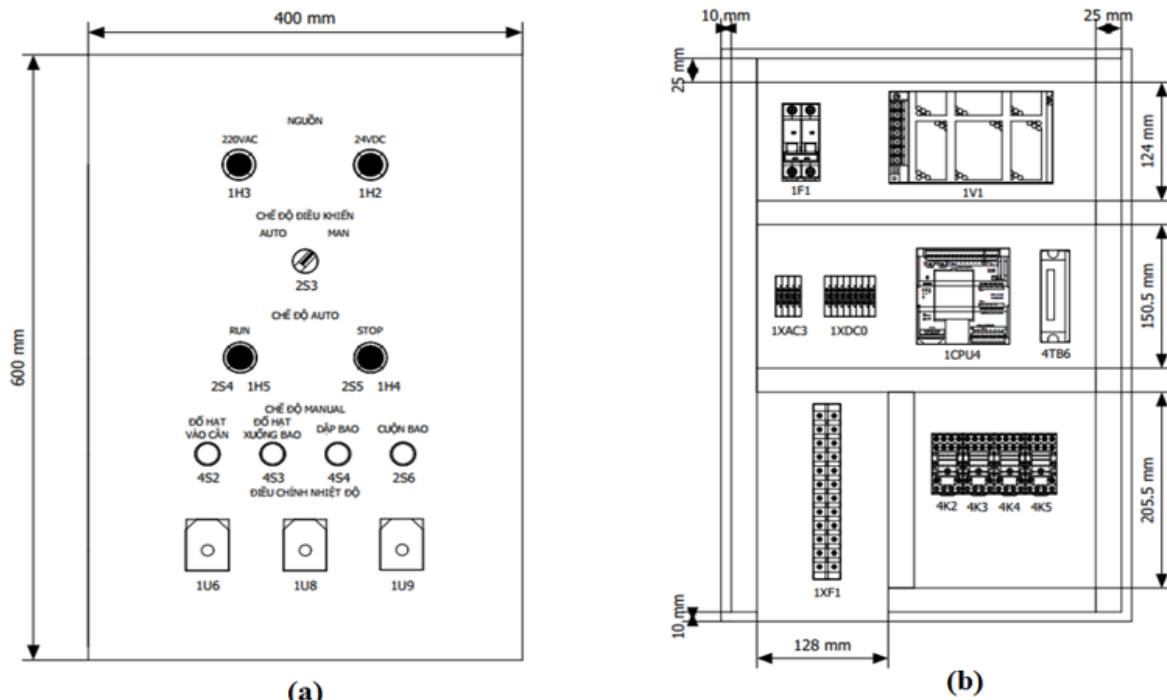


(c)

Hình 4 Mô hình 3D của máy đóng gói sản phẩm dạng thẳng đứng

(a) - Toàn bộ máy ; (b) - mặt trên của máy; (c) - mặt trước của máy

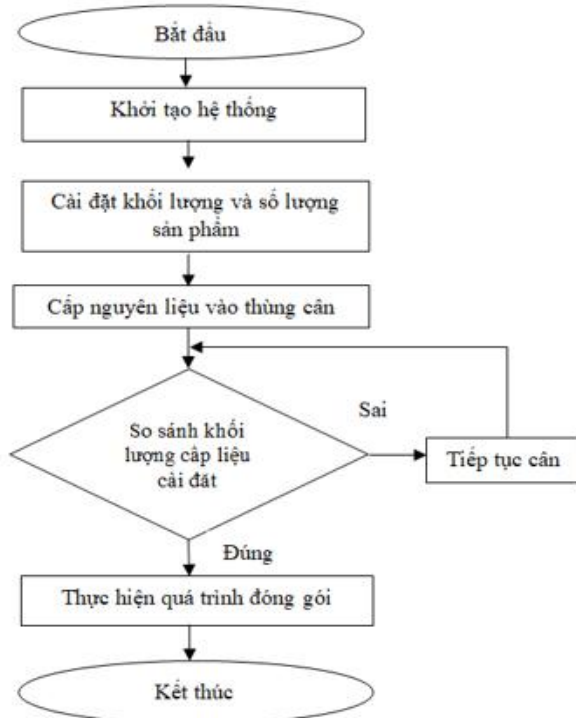
Toàn bộ quá trình điều khiển được sẽ vận hành trên tủ điện và được thiết kế như Hình 6. Trong đó, Hình 6-a là sơ đồ mặt trước của tủ điện, Hình 6-b mô tả sơ đồ mặt trong tủ điện.



Hình 5 Sơ đồ bố trí tủ điện điều khiển. (a)- Mặt trước; (b)- Mặt trong

3.2 Sơ đồ thuật toán điều khiển

Hình 7 trình bày lưu đồ kiểm tra và thiết lập chu trình hoạt động của máy. Khi đã nhập đủ các thông số đầu vào và kiểm tra, máy được chạy chế độ tự động.



Hình 6 Lưu đồ thuật toán điều khiển

Sơ đồ mạch điện điều khiển chu trình hoạt động của máy được mô tả như ở Hình 8. Trong đó, hệ thống sử dụng PLC S7 1200 của Siemens làm bộ điều khiển trung tâm. Màn hình HMI cảm ứng thuận tiện cho việc vận hành và cũng như cài đặt các thông số kỹ thuật. Hệ thống điều khiển gồm các khối chính sau:

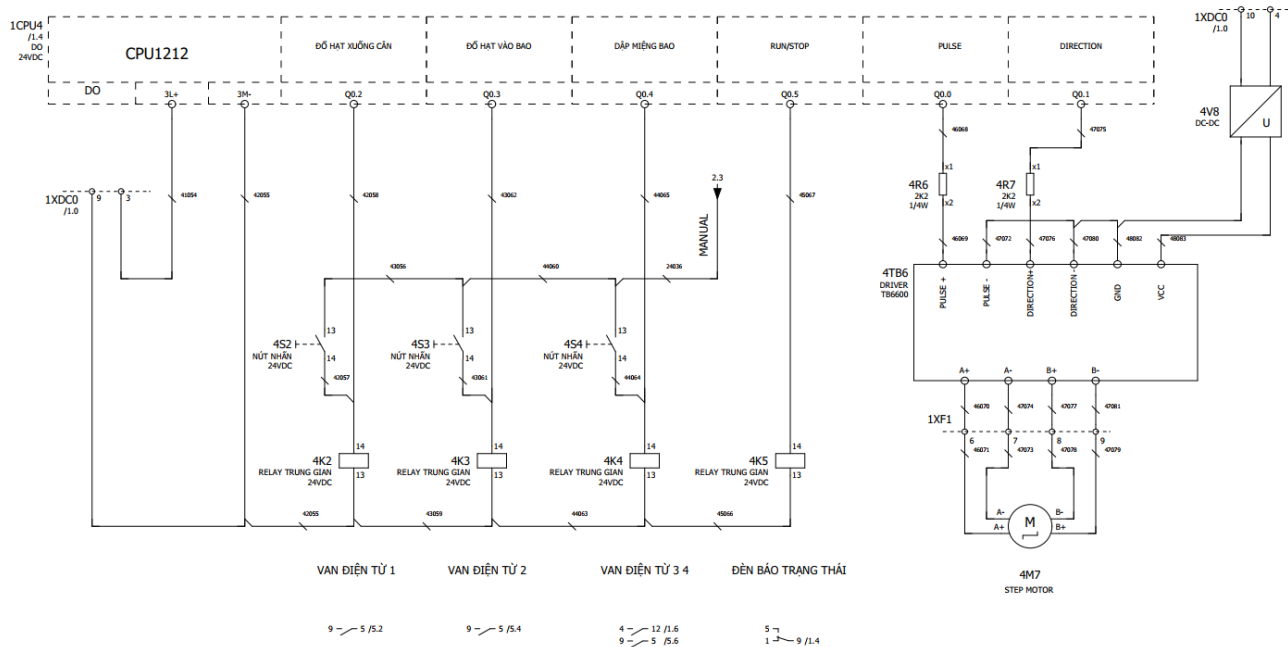
- Khối cảm biến và các nút nhấn.
- Khối điều khiển gồm PLC SIEMEN S7 1200, bộ driver cho động cơ, bộ điều khiển nhiệt RX-C100 và các rơ le trung gian.
- Khối cơ cấu chấp hành gồm: 3 động cơ servo, van xả khí, đèn báo, thiết bị gia nhiệt, xi lanh.

3.3 Phần mềm lập trình cho PLC

PLC (Programmable Logic Controller) là thiết bị điều khiển lập trình được (khả trình) cho phép thực hiện linh hoạt các thuật toán điều khiển logic thông qua một ngôn ngữ lập trình. PLC dùng để thay thế các mạch relay (rơ le) trong thực tế. PLC hoạt động theo phương thức quét các trạng thái trên đầu ra và đầu vào. Khi có sự thay đổi ở đầu vào thì đầu ra sẽ thay đổi theo. Ngôn ngữ lập trình của PLC có thể là Ladder hay State Logic. Hiện nay có nhiều hãng sản xuất ra PLC như Siemens, Allen-Bradley, Mitsubishi Electric, General Electric, Omron, Honeywell, ... Để viết chương trình và nạp code chương trình điều khiển cho PLC, phần mềm TIA

Portal được sử dụng với các phiên bản như V15 cho đến phiên bản V18. TIA Portal (Totally Integrated Automation Portal) là phần mềm cung cấp một môi

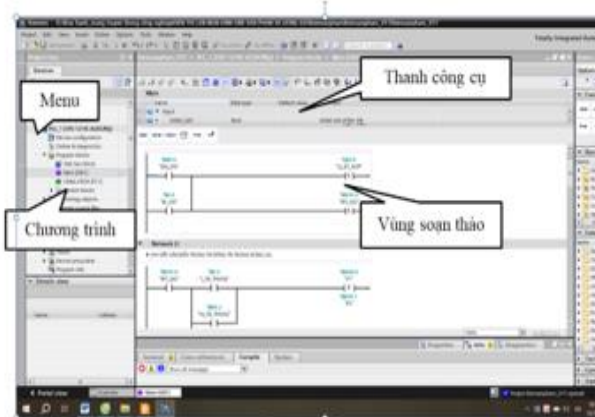
trường thân thiện với người dùng, có thể lập trình hiệu chỉnh, thư viện, có bộ điều chỉnh logic cần thiết đến ứng dụng điều khiển (Hình 9).



Hình 7 Sơ đồ mạch điện điều khiển chu trình hoạt động của máy [7]



(a)



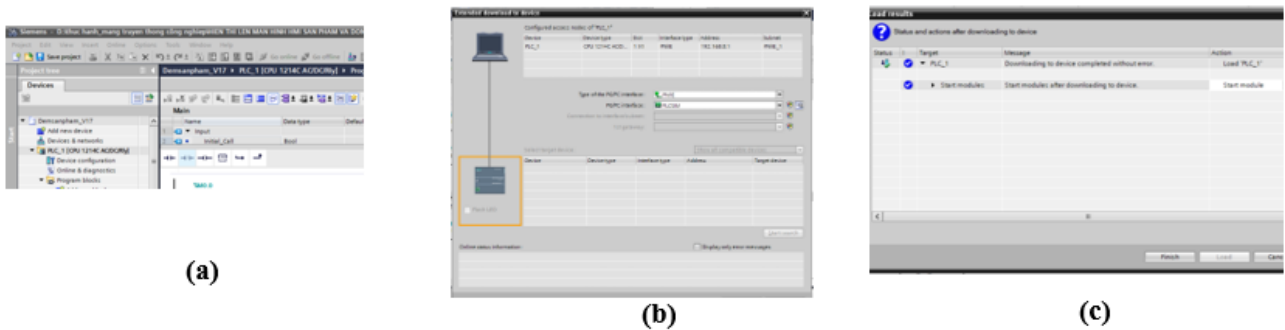
(b)

Hình 8 Phần mềm TIA Portal V18

(a)-Phần mềm TIA Portal V18 trên màn hình; (b)-Giao diện chương trình chính TIA Portal

Các bước tiến hành trên phần mềm TIA Portal V18 được trình bày ở Hình 10, gồm ba bước chính:

- Bước 1: nạp chương trình vào PLC
- Bước 2: thiết lập liên kết giữa máy tính và PLC
- Bước 3: khởi động module PLC



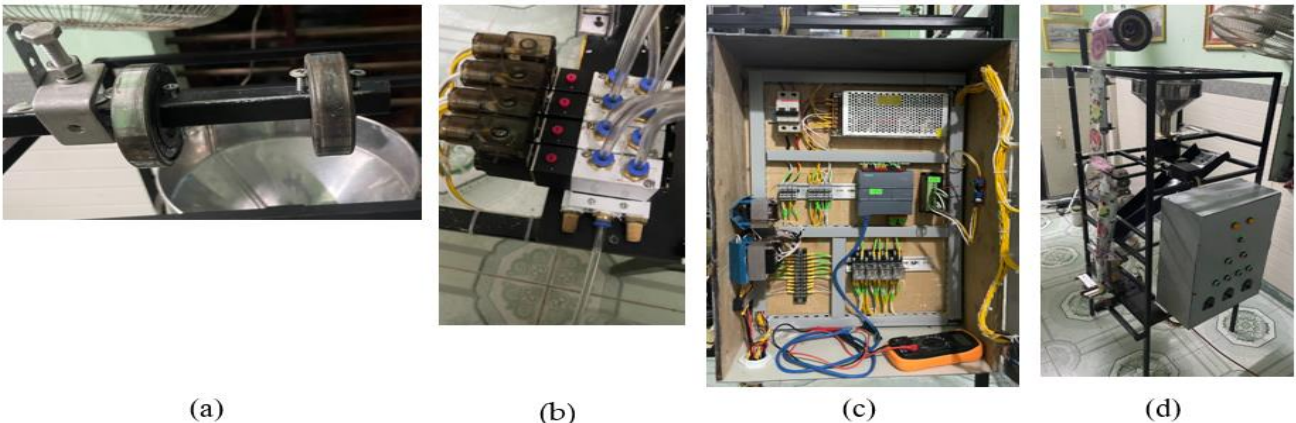
Hình 9 Các bước tiến hành trên phần mềm TIA Portal V18

(a)- Nạp chương trình vào PLC; (b)- Thiết lập liên kết giữa máy tính và PLC; (c)-Khởi động module PLC

3.4 Kết quả khảo nghiệm

Quá trình khảo nghiệm máy được tiến hành qua các bước sau:

Bước 1: lắp đặt các bộ phận. Tiến hành lắp đặt các bộ phận như: lắp ổ bi vào cuộn bao, lắp hệ thống khí nén, đấu nối tủ điện để có được hệ thống máy đóng gói hoàn chỉnh.



Hình 10 Lắp đặt các bộ phận

(a)- Lắp ổ bi vào cuộn bao, (b)- Lắp hệ thống khí nén, (c)- Đấu nối tủ điện, (d)- Máy lắp đặt hoàn chỉnh

Bước 2: vận hành máy. Sau khi lắp ráp máy hoàn chỉnh, nhập các thông số ban đầu trên phần mềm Tia Portal đã cài đặt như: tốc độ đóng gói, khối lượng bột nguyên liệu, và số lượng sản phẩm cần đóng gói. Cuối cùng, tiến hành vận hành máy đóng gói (Hình 12-a), thu được sản phẩm như (Hình 12-b). Sau khi lắp ráp máy hoàn chỉnh, nhập đầy đủ các thông số ban đầu như đã chỉ ra ở Mục 3.3. Sau đó, tiến hành vận hành máy đóng gói. Nhận xét: khi so sánh với máy đóng gói bột của nhóm nghiên cứu khác, kích thước máy của nhóm nghiên cứu đề tài nhỏ hơn (kích thước: (1 650 × 540 × 600) mm so với (1 620 × 620 × 1 500) mm, nguồn điện cung cấp cho máy giống nhau (điện áp: 220 V, tần số 50/60 Hz, loại 1 pha), công suất nhỏ hơn (công suất 0,75 kW so



Hình 11 Vận hành máy

(a) - Xi lanh ép bao gói; (b) - Bao bì được đóng gói thành phẩm

với $(1\,620 \times 620 \times 1\,500)$ mm, nguồn điện cung cấp cho máy giống nhau (điện áp: 220 V, tần số 50/60 Hz, loại 1 pha), công suất nhỏ hơn (công suất 0,75 kW so với 2 kW), năng suất máy nhỏ hơn (năng suất: 150-200) sản phẩm/giờ so với (2 400-6 000) sản phẩm/giờ). Điều này lý giải là do động cơ cuộn màng trong nghiên cứu này sử dụng động cơ bước KV4234-F2B009 có công suất nhỏ hơn máy của nhóm sử dụng động cơ Servo SGM7J-02A7D61 của hãng Yaskawa [1]. Do đó, trong tương lai những đề tài nghiên cứu khoa học tiếp theo sẽ cập nhật và thay đổi một số yếu tố về động cơ cũng như cơ cấu truyền động để đánh giá, thử nghiệm tăng năng suất của máy cho phù hợp.

4 Kết luận và đề xuất

Máy đóng gói bột đã được nghiên cứu, thiết kế và chế tạo thành công, hiện đang được sử dụng trong giảng dạy thực hành và thực tập cho sinh viên. Trong quá trình vận hành, máy đáp ứng các tiêu chuẩn về an toàn lao động, hiệu suất hoạt động, và độ bền theo thông số đã cài đặt, đảm bảo hoạt động ổn định, chính xác và phù hợp với yêu cầu kỹ thuật đề ra. Kết quả khảo nghiệm cho thấy máy đạt năng suất từ 150 sản phẩm đến 200 sản phẩm mỗi giờ. Ngoài ra, một số yếu tố vẫn chưa đạt yêu cầu kỹ thuật, bao gồm việc bột nguyên liệu văng ra ngoài khuôn dưỡng khi đổ, dẫn đến trọng lượng không chính xác, và môi hàn chưa đồng đều. Chính vì vậy, để khắc phục những nhược điểm này, việc tiếp tục nghiên cứu và phát triển máy đóng gói sản phẩm dạng bột là cần thiết trong các nghiên cứu tiếp theo.

Tài liệu tham khảo

1. Sang, T. M., Vinh, Đ. P., Khải, N. H., & Huy, T. Q. (2023). Thiết kế và chế tạo máy đóng gói sản phẩm dạng nằm ngang. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ – Đại học Đà Nẵng*, 105-110.
2. Lương, Đ. P., & Nông, V. Đ. (2019). Thiết kế, chế tạo hệ thống phân loại và đóng gói sản phẩm.
3. Sơn, T. T., Vũ, N. P., (2016). Nghiên cứu và chế tạo máy xếp và đóng gói bánh răng nhỏ dùng trong động cơ servo. *Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh*
4. Phụng, N. L. (2016). Nghiên cứu, thiết kế và chế tạo cụm diệt khuẩn cho máy đóng gói khăn lạnh bằng công nghệ plasma lạnh. *Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh*
5. Saraf, M. R., Ruiwale, V. V., Kulkarni, V. V., & Kulkarni, S. M. (2016). Design and Development of Cost Effective Automatic Machine for Powder Packaging. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 4, 420-424..
6. Musa, S. Design of a Pulverizing and Packaging Machine for Vegetable Powder Production.
7. Hessburg, A. T. (2021). *U.S. Patent No. 11,111,051*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
8. Adeyeri, M. K., Mpofo, K., & Kareem, B. (2016). Development of hardware system using temperature and vibration maintenance models integration concepts for conventional machines monitoring: a case study. *Journal of Industrial Engineering International*, 12, 93-109.
9. Baroro, J. M. M., Alipio, M. I., Huang, M. L. T., Ricamara, T. M., & Beltran Jr, A. A. (2014). Automation of packaging and material handling using programmable logic controller. *International Journal of Scientific Engineering and Technology*, 3(6), 767-770.

10. Saraf, M. R., Ruiwale, V. V., Kulkarni, V. V., & Kulkarni, S. M. (2016). Design and Development of Cost Effective Automatic Machine for Powder Packaging. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 4, 420-424.
11. Mujbaile, V. N., Chandekar, V., Nageshwar, V., Dongarwar, R., & Jamaiwar, O. Experimental Optimization of Pulverizer Machine.
12. Hadi, M. I., Bawa, M. A., Dandakouta, H., Ahmed, M., & Kamtu, P. M. A. (2017). Improvement on the design, construction and testing of hammer mill. *American Journal of Engineering Research*, 6(3), 139-146.

Research, design, and manufacture a powder packaging machine with a capacity of 200 packs per hour

Ho Van Dung^{1,*}, Khuong Anh Son¹, Vo Cong Anh¹, Le Thi Kim Anh¹, Truong Ngoc Cuong², Ngo Xuan Cuong³

¹Faculty of Engineering and Food Technology, University of Agriculture and Forestry, Hue University

²Faculty of Mechanical Engineering, Ho Chi Minh University of Technology, Vietnam National University HCMC.

³School of Engineering and Technology, Hue University

*hovandung@huaf.edu.vn

Abstract Currently, there are different types of packaging machines in the market that are suitable for centella and cereal powder in the form of bulk or package. During production in factories or industrial sectors, the dosing and packaging stages play an important role. This study presents the design and manufacture of a vertical packing machine, in which each product moves continuously, regularly, and at a constant speed during the packing process. The machine has dimensions of (1650 × 540 × 600) mm, weighs 45 kg, and a maximum capacity of (150-200) products per hour. The products in the form of package with dimensions of (115 × 60 × 8) mm. The system used a Siemens S7-1200 PLC (Programmable Logic Controller) as the central control unit and a touch HMI screen for the operation process. The model of the machine is used as a reference for teaching and training for students in mechanical engineering and control engineering – automation majors.

Keywords Packaging, heating, loadcell, packaging machine, Siemens S7 PLC, TIA Portal V18.

Thử nghiệm lên men nem chua nấm sò vua (*Pleurotus eryngii*) sử dụng vi khuẩn acid lactic

Lưu Minh Châu^{1,*}, Nguyễn Thị Mỹ Tiên¹, Bùi Hoàng Đăng Long¹, Đoàn Thị Kiều Tiên², Nguyễn Văn Thành¹, Huỳnh Xuân Phong¹, Nguyễn Ngọc Thanh^{1,**}

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Công nghệ Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

*lmchau@ctu.edu.vn, **nnthanh@ctu.edu.vn

Tóm tắt

Nấm sò vua (*Pleurotus eryngii*) là một loại nấm ăn giàu giá trị dinh dưỡng và dược học; quả thể có kích thước lớn, hình dáng đẹp, thịt chắc, dày và hơi giòn. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men và xác định các điều kiện thích hợp để lên men nem chua nấm sò vua. Mười chủng vi khuẩn lactic đã được chọn lọc và các điều kiện lên men thử nghiệm bao gồm nhiệt độ ủ (nhiệt độ phòng, 30 °C và 37 °C), mật độ giống (10^3 , 10^5 , 10^7) tế bào/mL, loại nếp (nếp Thái, nếp Thái thơm, nếp Long An dẻo, nếp Cái hoa vàng, nếp lứt), tỷ lệ nấm và nếp (40:60, 50:50 và 60:40 w/w) và nồng độ muối (1 %, 2 %, và 3 % w/w). Kết quả cho thấy chủng vi khuẩn HCGT31 có khả năng sinh acid lactic cao nhất sau 2 ngày lên men với hàm lượng 19,05 g/L. Điều kiện lên men nấm sò vua tốt nhất là ở nhiệt độ 37 °C và mật độ giống 10^7 tế bào/g, sử dụng nếp Thái thơm với tỷ lệ nấm và nếp là 50:50 w/w và nồng độ muối là 1% w/w. Sản phẩm nem chua sau 24 giờ lên men có hàm lượng acid là 7,43 g/L, pH = 4,44 và điểm đánh giá cảm quan là 15,89/20 theo TCVN 3215:79.

Nhận 04/09/2024
Được duyệt 20/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Lên men acid lactic, nấm sò vua, nem chua, *Pleurotus eryngii*, vi khuẩn lactic.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Pleurotus eryngii hay nấm sò vua (NSV) là loài có quả thể lớn nhất trong chi nấm sò. Tại Việt Nam, NSV còn được gọi là nấm đùi gà do nấm có hình dạng đặc biệt với thân dài, dày, nhiều thịt màu trắng và phần mũ nhỏ màu nâu vàng, tạo cảm giác như đùi gà nên được gọi là nấm đùi gà. Khi vừa thu hoạch, NSV có ít hương vị hoặc mùi thơm. Tuy nhiên, khi được nấu chín, hương vị của nó được gia tăng với vị umami đặc trưng và vẫn giữ được độ giòn, không bị mềm như nhiều loại nấm khác. Hiện nay, NSV được trồng rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới bởi loại nấm dễ trồng, cho năng suất cao và được dùng để chế biến

thành nhiều món ăn thơm ngon và hấp dẫn. Cũng như các loại nấm khác, NSV có giá trị dinh dưỡng cao do chứa nhiều protein, carbohydrate, acid béo không bão hòa, chất xơ, vitamin B và các loại khoáng chất [1]. Hàm lượng calo của NSV thấp nên phù hợp với những người thực hiện chế độ ăn kiêng. Hơn nữa, NSV còn có nhiều giá trị dược tính như được sử dụng để tăng cường miễn dịch, hỗ trợ tiêu hóa và ngăn ngừa bệnh tim mạch [2]. Đặc biệt, polysaccharide của *P. eryngii* ngày càng được quan tâm do có tác dụng chống oxy hóa, chống khối u, điều hòa miễn dịch, kháng khuẩn, chống tăng lipid máu và các hoạt tính khác [3, 4].

Đối với những người trồng nấm, chất lượng sau thu hoạch và bảo quản là vấn đề cần được quan tâm. Do đặc tính của nấm tươi có độ ẩm cao, pH ở mức trung tính nên nếu không được bảo quản cẩn thận sẽ dẫn đến suy giảm chất lượng của nấm như giảm trọng lượng, thay đổi cấu trúc, màu sắc, mất dinh dưỡng, hương vị đặc trưng, bị nhiễm khuẩn, thậm chí hình thành các chất có hại cho sức khỏe của con người [5]. Trong đó, NSV cũng là một loại nấm dễ hỏng và không thích hợp để lưu trữ lâu dài hoặc vận chuyển đường dài. Sự suy giảm chất lượng của nấm sau thu hoạch làm hạn chế giá trị thương mại của nó và cản trở sự phát triển của ngành công nghiệp nấm. Một số phương pháp được áp dụng để bảo quản nấm là sử dụng các loại bao bì đặc biệt, giữ ở nhiệt độ thấp, chiếu xạ, sấy khô hay sử dụng các lớp phủ hóa học như chitosan và tinh dầu. Bên cạnh những phương pháp vật lý và hóa học thì việc lên men acid lactic nấm cũng được nghiên cứu [6]. Lên men được biết đến là một trong những kỹ thuật chế biến lâu đời nhất, giúp giữ lại hay cải thiện các đặc tính an toàn, dinh dưỡng và cảm quan của nguồn nguyên liệu ban đầu. NSV có thể bảo quản bằng ba quy trình lên men acid lactic truyền thống là dưa cải bắp, ngâm chua và kim chi với chủng *L. plantarum* là nguồn vi sinh bổ sung trong quá trình lên men. Kết quả cho thấy vi khuẩn lactic (LAB) vẫn phát triển nhanh chóng và kiểm soát các vi sinh vật gây hư hỏng và kết luận rằng để bảo quản nấm lâu dài, phương pháp lên men acid lactic là một lựa chọn tốt so với phương pháp ngâm muối mặn [7]. Bên cạnh phương pháp lên men theo quy trình truyền thống, một quy trình khác được sử dụng để lên men nấm cũng dựa trên nguyên lý lên men acid lactic đó chính là sản xuất nem chua chay. Trong xúc xích lên men truyền thống của Thái Lan, thịt heo đã được thay bằng nấm bào ngư và kết quả rất khả quan khi không chỉ nhận được sự ưa thích về cảm quan cũng như đáp ứng các tiêu chuẩn an toàn vi sinh, mà còn chứa hàm lượng chất béo bão hòa thấp hơn và cung cấp ít calo hơn so với sản phẩm truyền thống [8]. Việc sản xuất nem chay từ nguồn nguyên liệu là nấm sẽ giúp đa dạng hóa sản phẩm nem chua trên thị trường, đặc biệt là cung cấp thêm thực phẩm trong khẩu phần người ăn chay.

Tại Việt Nam, những năm gần đây, việc sản xuất nem chua chay được quan tâm và nghiên cứu rộng rãi hơn. Một số nghiên cứu đã công bố kết quả trên các tạp chí như lên men nem chua nấm rom, nấm sò [9-11]. Trong nghiên cứu này, quy trình sản xuất nem chua chay từ NSV được thử nghiệm để đa dạng các loại nem chua, góp phần mở ra hướng đi mới trong việc phát triển các sản phẩm thực phẩm chay và thực phẩm lên men tại Việt Nam.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu và hóa chất

Muối chủng vi khuẩn lactic (LAB) được tuyển chọn và lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Vi sinh công nghiệp (Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ) gồm TX61, HCGT31, HK162, L54, L7, HK221, L39, HCM2, TX3 và L30 [9]. Môi trường MRS gồm có yeast extract 0,4 %, beef extract 0,8 %, peptone 1 %, D-glucose 2 %, K_2HPO_4 0,2 %, $MgSO_4$ 0,02 %, $MnSO_4$ 0,004 %, Tween 80 0,1 %, $C_2H_3NaO_2$ 0,5 % (De Man, Rogosa, & Sharpe, 1960).

Hóa chất: NaOH chuẩn 0,1 N (Cemaco, Việt Nam), phenolphthalein (Jinhuaada, China). NSV, nếp và các gia vị khác (dầu thực vật, tỏi, đường, tiêu, muối) được mua từ siêu thị Mega Cần Thơ.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men nem chua NSV

Các chủng vi khuẩn lactic được hoạt hóa và tăng sinh trong môi trường MRS lỏng ở 37 °C trong (36-48) giờ. Môi trường lên men được chuẩn bị trong các túi lên men theo tỷ lệ NSV và nếp đã nấu chín là 40:60 (w/w), bổ sung 5 % w/w dầu thực vật, 8 % w/w tỏi băm nhuyễn, 1,5 % w/w tiêu xay, 1,5 % w/w đường sucrose, 1,0 % w/w muối (tính trên khối lượng của nấm và nếp). Sau đó, dịch tăng sinh của các chủng vi khuẩn lactic (mật số 109 tế bào/mL) được chủng vào môi trường đã chuẩn bị với hàm lượng 0,4 % (v/w), trộn đều và lên men kỵ khí trong 2 ngày ở nhiệt độ phòng. Giá trị pH và hàm lượng acid lactic sinh ra trong sản phẩm được xác định để đánh giá quá trình lên men bởi các chủng LAB khác nhau.

2.2.2 Khảo sát ảnh hưởng của mật số giống chủng và nhiệt độ ủ đến quá trình lên men

Sau khi xác định được chủng LAB thích hợp để lên men nem chua NSV, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của mật số vi khuẩn (103, 105, và 107 tế bào/mL) và nhiệt độ ủ (30 °C, 37 °C và nhiệt độ phòng từ 28 °C đến 32 °C) đến quá trình lên men. Thí nghiệm được thực hiện tương tự như thí nghiệm ở Mục 2.2.1. Giá trị pH và hàm lượng acid lactic được theo dõi trong 2 ngày lên men.

2.2.3 Khảo sát ảnh hưởng của loại nếp đến quá trình lên men

Thí nghiệm được thực hiện để khảo sát ảnh hưởng của loại gạo nếp đến quá trình lên men. Trong đó, năm loại nếp khác nhau được chọn để khảo sát, bao gồm nếp Thái thường, nếp Thái thơm, nếp Long An dẻo, nếp Cái hoa vàng và nếp lứt. Tiến hành thực hiện tương tự như thí nghiệm ở Mục 2.2.1 với mật số giống chủng và nhiệt độ ủ được chọn ở Mục 2.2.2. Đo pH, xác định hàm lượng acid lactic sinh ra và đánh giá cảm quan nem chua từ NSV.

2.2.4 Khảo sát ảnh hưởng của sự thay đổi tỷ lệ nấm:nếp và nồng độ muối đến quá trình lên men

Sau khi xác định loại nếp thích hợp, tiến hành thử nghiệm thay đổi tỷ lệ NSV và nếp (loại nếp được chọn ở Mục 2.2.3) theo các tỷ lệ 40:60, 50:50, 60:40 và 70:30 w/w và hàm lượng muối bổ sung lần lượt là (1, 2 và 3) % w/w. Đo pH, xác định hàm lượng acid lactic sinh ra và đánh giá cảm quan nem chua từ NSV.

2.2.5 Phương pháp phân tích chỉ tiêu và xử lý số liệu

Xác định pH bằng máy đo pH Horiba (pH1100, Nhật Bản). Hàm lượng acid tổng được xác định bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,01 N [12]. Cảm quan sản phẩm được đánh giá bằng phương pháp cho điểm theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79 với các chỉ tiêu bao gồm màu sắc, mùi, vị và cấu trúc (thang điểm mô tả từ 0 đến 5) thông qua Hội đồng đánh giá cảm quan gồm 15 thành viên dựa trên thang điểm cảm quan đã xây dựng (độ tuổi từ 22 đến 40, thuộc Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ) [13]. Tiêu chuẩn này sử dụng hệ 20 điểm xây dựng trên một thang thống nhất có 6 bậc (0 đến 5) và cho điểm 5 là cao nhất cho một tiêu chuẩn. Trong đó, hệ số quan trọng của màu sắc là 0,5; mùi là 1,2; vị là 1,5 và cấu trúc là 0,8. Kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, USA). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Inc., USA).

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men nem chua NSV

Trong quá trình lên men lactic từ NSV, chủng LAB đóng vai trò quan trọng như là nguồn khởi động cho quá trình lên men thay vì phụ thuộc vào quá trình lên men tự nhiên. Trong nghiên cứu này, mười chủng LAB đã được phân lập và tuyển chọn để ứng dụng trong lên men nem chua NSV. Kết quả trong Bảng 1 thể hiện giá trị pH và hàm lượng acid lactic sinh ra sau 2 ngày lên men.

Bảng 1 Giá trị pH và hàm lượng acid lactic trong nem chua NSV sau 2 ngày lên men bởi 10 chủng LAB

Chủng LAB	pH ban đầu	pH sau lên men	Acid lactic (g/kg)	Chủng LAB	pH ban đầu	pH sau lên men	Acid lactic (g/kg)
HCGT31	6,17	3,59 ^a	19,05 ^e	L30	6,16	3,63 ^{ab}	14,70 ^{cd}
HCM2	6,12	3,61 ^{ab}	15,15 ^d	L39	6,16	3,60 ^{ab}	14,03 ^{cd}
HK162	6,12	3,65 ^b	15,38 ^d	L54	6,11	3,61 ^{ab}	9,53 ^{ab}
HK221	6,07	3,61 ^{ab}	13,88 ^{cd}	TX3	5,88	3,64 ^{ab}	11,18 ^{bc}
L7	6,17	3,64 ^{ab}	13,05 ^{cd}	TX61	6,17	3,66 ^b	7,05 ^a

Ghi chú: các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % theo kiểm định Duncan

Từ kết quả ở Bảng 1 có thể thấy, giá trị pH ban đầu của môi trường thử nghiệm dao động từ 5,88 đến 6,17 và nằm trong khoảng pH thích hợp cho sự phát triển của

đa số các vi khuẩn lactic (5,5-6,5) [14]. Do đó, pH của môi trường thử nghiệm ở mức phù hợp để LAB hoạt động. Sau 2 ngày, giá trị pH của 10 mẫu nem chua

được lên men bởi 10 chủng LAB đã giảm còn 3,59-3,66 và có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các chủng. Từ đó cho thấy, các chủng LAB đều có khả năng lên men lactic trên môi trường thử nghiệm. Bên cạnh đó, hàm lượng acid lactic trong các mẫu nem cũng được phân tích và ghi nhận với mức dao động từ 7,05 g/kg đến 19,05 g/kg. Trong đó, chủng TX61 và L54 có hàm lượng acid lactic thấp nhất lần lượt là 7,05 g/kg và 9,53 g/kg. Hàm lượng acid lactic của các chủng HCGT31, HCM2 và HK162 tương đối cao ($> 15,00$ g/kg), riêng chủng HCGT31 có hàm lượng acid lactic cao nhất (19,05 g/kg) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Điều này cho thấy giữa các chủng LAB khác nhau có khả năng thích ứng và mức độ lên men khác nhau trong cùng môi trường thử nghiệm lên men nem chua NSV.

NSV loại nấm chứa nhiều nguồn dinh dưỡng có thể đáp ứng đủ nhu cầu cần thiết cho sự phát triển của LAB [15]. Trong nấm có chứa các loại carbohydrate như glucose, mannose và trehalose, là nguồn carbon thích hợp cho LAB, hơn nữa NSV cũng chứa nhiều các amino acid cùng với các chất xơ, vitamin và khoáng cần thiết cho sự phát triển của LAB. Điều này đã được nghiên cứu, kết quả cho thấy chất chiết xuất từ *Pleurotus eryngii* kích thích sự phát triển của vi khuẩn probiotic gồm *Lactobacillus* spp., *Bifidobacteria* spp., và *Enterococcus faecium* [16]. Ngoài ra, khi nghiên cứu trong môi trường đơn giản, chi phí thấp và hiệu quả trên nguồn dinh dưỡng được chiết xuất từ nấm *Pleurotus eryngii*, kết quả rất khả quan khi LAB sinh trưởng tốt và duy trì tỷ lệ sống cao và được cho là có thể thay thế môi trường MRS trong ngành công nghiệp

thực phẩm, y sinh và phòng thí nghiệm [17]. Trong một nghiên cứu khác, nếu lên men NSV với *Lactobacillus plantarum* cho thấy các hoạt tính sinh học được tăng cường, bao gồm các hoạt động chống vi khuẩn, chống oxy hóa và chống dị ứng [18].

Ngoài ra, với mục đích sản xuất nem chua chay từ nấm, môi trường thử nghiệm còn được bổ sung thêm gạo nếp và các loại gia vị với các mục đích khác nhau. Trong đó, gạo nếp đóng vai trò như chất kết dính với nấm để tạo cấu trúc cho sản phẩm, bên cạnh đó cũng đóng vai trò như một nguồn cung cấp chất dinh dưỡng thúc đẩy quá trình lên men. Các gia vị như muối, đường, tỏi và tiêu có tác dụng hạn chế sự phát triển của vi khuẩn không mong muốn thông qua việc điều chỉnh pH hoặc tạo ra các chất ức chế, đồng thời quyết định hương vị cuối cùng của sản phẩm. Nhìn chung, từ các nghiên cứu cho thấy việc sử dụng vi khuẩn LAB để lên men nấm là hoàn toàn phù hợp và chủng HCGT31 có khả năng sinh acid lactic cao, giảm pH nhanh chóng nên chủng vi khuẩn này được chọn để ứng dụng lên men nem chua NSV.

3.2 Ảnh hưởng của mật số giống chủng và nhiệt độ ủ đến quá trình lên men

Trong số các chủng LAB được khảo sát thì chủng HCGT31 có khả năng lên men tốt nhất trong môi trường thử nghiệm. Do đó, trong thí nghiệm này tiến hành khảo sát mật số và nhiệt độ thích hợp cho chủng HCGT31 thực hiện quá trình lên men nem chua từ nấm với 3 mức nhiệt độ khảo sát là nhiệt độ thường, 30 °C, 37 °C và 3 mức mật số vi khuẩn gồm (10^3 , 10^5 và 10^7) tế bào/mL. Kết quả hàm lượng acid sinh ra và giá trị pH của nem chua NSV sau (12, 24, 36 và 48) giờ lên men bằng được ghi nhận và thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2 Giá trị pH và hàm lượng acid lactic của chủng HCGT31 sinh ra ở các nghiệm thức lên men

Nhân tố		pH					Acid lactic (g/kg)			
Mật số (tế bào /mL)	Nhiệt độ (°C)	0 giờ	12 giờ	24 giờ	36 giờ	48 giờ	12 giờ	24 giờ	36 giờ	48 giờ
10^3	phòng (28-32)	6,15	5,11 ^a	4,35 ^{abcd}	4,22 ^{ab}	3,95 ^b	5,25 ^a	7,35 ^a	11,70 ^{bc}	12,98 ^{ab}
10^5		6,13	4,66 ^{ab}	4,45 ^d	4,29 ^c	4,04 ^b	5,93 ^b	7,05 ^a	10,50 ^a	12,90 ^a
10^7		6,17	4,52 ^c	4,41 ^{bcd}	4,22 ^b	3,97 ^b	7,13 ^{cd}	8,63 ^{bc}	13,80 ^e	13,88 ^{abc}
10^3	30	6,16	4,94 ^{bc}	4,40 ^{bcd}	4,26 ^{ab}	4,04 ^b	7,73 ^d	7,43 ^a	11,33 ^{ab}	13,73 ^{abc}
10^5		6,20	4,47 ^a	4,43 ^{cd}	4,23 ^{ab}	3,99 ^b	6,45 ^{bc}	6,90 ^a	11,63 ^{bc}	13,13 ^{ab}
10^7		6,14	4,42 ^a	4,31 ^{ab}	4,26 ^{ab}	4,06 ^b	7,58 ^d	8,18 ^b	12,53 ^{cd}	15,15 ^d

10 ³	37	6,15	4,41 ^a	4,32 ^{abc}	4,11 ^a	3,80 ^a	6,60 ^{bc}	8,55 ^{bc}	12,15 ^{bc}	14,10 ^{bcd}
10 ⁵		6,15	4,29 ^a	4,28 ^a	4,10 ^a	3,77 ^a	8,40 ^e	9,15 ^{cd}	13,13 ^{de}	14,33 ^{cd}
10 ⁷		6,18	4,41 ^a	4,40 ^{bcd}	4,09 ^a	3,80 ^a	8,78 ^e	9,68 ^d	15,68 ^f	16,43 ^e

Ghi chú: các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % theo kiểm định Duncan

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy, giá trị pH sau 48 giờ, có xu hướng giảm dần ở tất cả các nghiệm thức khảo sát. Ban đầu, giá trị pH chỉ dao động trong khoảng 6,14-6,20 và sau 24 giờ lên men, pH ghi nhận các giá trị dao động trong khoảng 4,28-4,45. Và sau 48 giờ, pH của nem lúc này chỉ còn khoảng 3,77-4,06. Điều này cho thấy, quá trình lên men lactic đã được thực hiện và sự hình thành acid lactic đã làm cho pH giảm dần xuống mức pH acid. Khi đánh giá dựa trên chỉ tiêu hàm lượng acid lactic cũng cho thấy có hàm lượng acid lactic sinh ra tăng theo thời gian và có sự tương quan nghịch với giá trị pH. Kết quả từ Bảng 2 có thể thấy ở cùng nhiệt độ lên men, hàm lượng acid khi bổ sung vi khuẩn ở ba mức mật số (10³, 10⁵, và 10⁷) tế bào/mL có sự khác nhau. Theo đó hàm lượng acid ghi nhận khi bổ sung nguồn giống ban đầu ở mật số 10⁷ tế bào/mL luôn cao hơn nguồn giống ban đầu chỉ đạt ở (05 và 10³) tế bào/mL. Thực tế cho thấy vi khuẩn ở mật số 10³ tế bào/mL thì cần có thời gian để phát triển đến một mật số cao hơn, trong khi mật số 10⁷ tế bào/mL có thể lên men acid lactic mà không cần thời gian phát triển thêm. Trong các quá trình lên men, việc thêm vi khuẩn với mật độ thấp vào môi trường mới đòi hỏi một thời gian để vi khuẩn thích nghi và phát triển đến mật độ thích hợp nhằm thực hiện quá trình lên men. Tương tự, trong các sản phẩm lên men rau củ truyền thống, việc tận dụng hệ vi sinh vật có sẵn dẫn đến quá trình lên men kéo dài. Do đó, việc bổ sung giống khởi đầu với mật độ thích hợp không chỉ giúp định hướng quá trình lên men theo mong muốn mà còn tăng khả năng phát triển của vi khuẩn lactic, đồng thời nâng cao khả năng cạnh tranh với các vi sinh vật khác trong các điều kiện môi trường để tạo ra các sản phẩm lên men [19, 20].

Mỗi loại vi khuẩn lactic có nhiệt độ tối ưu để phát triển. Nếu nhiệt độ vượt quá hoặc thấp hơn ngưỡng này, sự phát triển của vi khuẩn sẽ bị ảnh hưởng, có thể dẫn đến việc tạo ra các sản phẩm lên men không đạt yêu cầu. Không chỉ vậy, nhiệt độ tối ưu cho vi khuẩn lactic có

thể giúp chúng phát triển mạnh mẽ và cạnh tranh tốt hơn với các vi sinh vật không mong muốn. Khi thử nghiệm lên men ở 3 mức nhiệt phổ biến cho quá trình lên men lactic gồm nhiệt độ phòng, 30 °C, và 37 °C, hàm lượng acid sinh ra tăng theo thời gian và có khác biệt giữa các mức nhiệt độ (Bảng 2). Cụ thể, sau 24 giờ với mật số 10⁷ tế bào/mL, ở nhiệt độ phòng và 30 °C, hàm lượng acid sinh ra lần lượt là 8,63 và 8,18 g/kg khác biệt có ý nghĩa thống kê so với với 9,68 g/kg ở 37 °C, tương tự sau 48 giờ cũng vậy. Trong đó, ở nghiệm thức lên men ở 37 °C với mật số 10⁷ tế bào/mL, hàm lượng acid lúc 12 giờ là 8,78 g/kg, lúc 24 giờ là 9,68 g/kg, sau đó tăng mạnh hơn từ 9,68 g/kg đến 15,68 g/kg (ở 36 giờ) và lên đến 16,43 g/kg (ở 48 giờ), đạt cao nhất và có khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả cho thấy, 37 °C là nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men của chủng HCGT31 và phù hợp với các nghiên cứu trước đây, khi khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình sinh acid lactic của các chủng LAB thì 37 °C là nhiệt độ thích hợp cho việc sản sinh nhiều acid lactic [21-23].

Khi kết thúc quá trình lên men, pH cuối cùng ảnh hưởng trực tiếp đến hương vị, mùi, và kết cấu của sản phẩm lên men. Do đó, theo dõi pH cuối của sản phẩm sẽ giúp kiểm soát và điều chỉnh quy trình lên men để đạt được kết quả mong muốn, đảm bảo sản phẩm đạt chất lượng cao và đồng nhất. Vì vậy, thời gian thích hợp cho quá trình lên men nem chua NSV là 24 giờ khi mật số ban đầu đạt 10⁷ tế bào/mL và lên men ở 37 °C.

3.3 Ảnh hưởng của nguyên liệu gạo nếp đến quá trình lên men

Do nếp là một trong những thành phần chính chiếm tỉ lệ nhiều trong quá trình lên men nem chua nắm nên thí nghiệm này được tiến hành để xác định loại nếp nào phù hợp nhất cho quá trình lên men. Kết quả về giá trị pH và hàm lượng acid lactic hình thành sau 24 giờ lên men bởi chủng vi khuẩn HCGT31 với 5 loại gạo nếp khác nhau được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3 Giá trị pH, hàm lượng acid lactic và điểm số đánh giá cảm quan của nem chua NSV trên các loại nếp

Loại nếp	pH	Acid lactic (g/kg)	Chỉ tiêu				Tổng điểm có trọng lượng
			Màu sắc	Mùi	Vị	Cấu trúc	
Nếp Thái	4,42 ^b	7,65 ^b	4,44 ^b	3,78 ^b	3,78 ^c	3,67 ^{ab}	15,36
Nếp Thái thơm	4,44 ^b	7,43 ^b	4,33 ^{ab}	3,67 ^b	4,00 ^c	3,89 ^b	15,67
Nếp Long An dẻo	4,36 ^{ab}	7,50 ^b	4,22 ^{ab}	3,33 ^{ab}	3,11 ^{ab}	3,78 ^b	13,80
Nếp Cái hoa vàng	4,34 ^a	6,45 ^a	4,22 ^{ab}	3,44 ^{ab}	3,22 ^b	3,78 ^b	14,09
Nếp lứt	4,38 ^{ab}	5,63 ^a	3,89 ^a	3,00 ^a	2,67 ^a	3,22 ^a	12,13

Ghi chú: các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % theo kiểm định Duncan

Sau 24 giờ lên men, kết quả cho thấy hàm lượng acid lactic ở 5 nghiệm thức dao động từ (5,63-7,65) g/kg. Từ kết quả thống kê có thể chia 5 nghiệm thức này thành 2 nhóm: nếp Thái, nếp Thái thơm và nếp Long An dẻo có hàm lượng acid cao hơn, giữa chúng khác biệt không có ý nghĩa, nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại là nếp Cái hoa vàng và nếp lứt. Trong đó, hàm lượng acid lactic của nếp Thái là cao nhất đạt 7,65 g/kg và nếp lứt có lượng acid lactic thấp nhất với 5,63 g/kg. Do cấu trúc của nấm nên việc kết hợp với nếp để tạo nên sản phẩm nem chua chay là một sự lựa chọn hợp lý. Nếp là nguyên liệu tạo nên kết cấu đặc biệt cho nem chua. Khi hấp hoặc nấu chín, nếp trở nên dẻo và có khả năng giữ nước, giúp sản phẩm cuối cùng có độ mềm mại và không bị khô. Không chỉ vậy, nếp còn cung cấp nguồn tinh bột dồi dào, là nguyên liệu chính cho quá trình lên men. Tinh bột từ nếp được chuyển hóa thành đường, cung cấp năng lượng cho vi sinh vật trong quá trình lên men. Sử dụng nếp trong nem chua còn tăng cường giá trị dinh dưỡng của sản phẩm cuối cùng, cung cấp thêm carbohydrate và các vi chất dinh dưỡng từ nếp. Thành phần của gạo nếp nói chung được xác định gồm khoảng 74,5 % carbohydrate, 8,6 % protein, 1,5 % lipid và 0,8 % khoáng chất (magie, canxi, phospho, sắt,...) cũng như các vitamin (B1, B2, PP) [24].

Với mục tiêu hướng đến tạo ra sản phẩm nem chua chay từ NSV nên ngoài chỉ tiêu về hàm lượng acid lactic thì việc cảm quan sản phẩm cũng rất quan trọng. Điểm cảm

quan vị trung bình của sản phẩm đạt từ 2,67 đến 4,00, nghiệm thức nếp Thái (3,78) và nếp Thái thơm (4,00) cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Khi cảm quan về màu sắc, mùi và cấu trúc thì kết quả thống kê cho thấy, giữa các nghiệm thức khác biệt không lớn. Trong đó, việc sử dụng nếp Thái thơm nhận được điểm trung bình cao nhất lần lượt là 4,33, 3,67 và 3,89, cao hơn so với phần lớn các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, nếp lứt có điểm cảm quan thấp nhất ở tất cả các chỉ tiêu. Nguyên nhân có thể là do trong nếp lứt còn có lớp vỏ cám chứa lượng chất xơ không hòa tan cao, các acid béo no và không no [25]. Những chất này đã gây cản trở cho sự phát triển của vi khuẩn lactic dẫn đến hàm lượng acid lactic sinh ra thấp. Đồng thời, cũng chính lớp vỏ cám này làm cho các hạt nếp bị tách rời, không có độ kết dính của nem chua cũng như làm giảm giá trị cảm quan của sản phẩm cuối cùng. Do đó, nguyên liệu nếp Thái thơm là phù hợp cho quá trình lên men cũng như giá trị cảm quan của nem chua NSV.

3.4 Ảnh hưởng của tỷ lệ nấm/nếp và nồng độ muối đến quá trình lên men

Tỷ lệ nấm/nếp và nồng độ muối đều là các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình lên men. Việc xác định các yếu tố này ở mức độ phù hợp sẽ đảm bảo quá trình lên men diễn ra hiệu quả, tạo ra sản phẩm có hương vị, kết cấu và chất lượng cao. Giá trị pH và hàm lượng acid lactic sinh ra khi thay đổi tỷ lệ nấm/nếp và nồng độ muối sau khi lên men 24 giờ được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4 Giá trị pH, hàm lượng acid lactic và điểm số đánh giá cảm quan của nem chua NSV

Tỉ lệ nấm và nếp (w/w)	Tỉ lệ muối (%)	pH	Acid lactic (g/kg)	Chỉ tiêu				Tổng điểm có trọng lượng
				Màu	Mùi	Vị	Cấu trúc	
40:60	1	4,52 ^{cd}	6,38 ^{de}	4,11 ^a	3,78 ^a	3,56 ^{cd}	3,11 ^a	14,42
	2	4,53 ^{cd}	5,63 ^{abc}	4,11 ^a	3,56 ^a	3,11 ^{abc}	3,00 ^a	13,39
	3	4,62 ^e	5,10 ^a	4,22 ^a	3,44 ^a	2,89 ^{abc}	2,89 ^a	12,89
50:50	1	4,51 ^{cd}	6,60 ^{de}	4,22 ^a	3,89 ^a	4,44 ^e	3,33 ^a	16,10
	2	4,33 ^a	6,53 ^{de}	4,11 ^a	3,67 ^a	3,44 ^{bcd}	3,44 ^a	14,37
	3	4,57 ^{de}	6,08 ^{cd}	4,11 ^a	3,78 ^a	2,78 ^{ab}	3,22 ^a	13,34
60:40	1	4,45 ^{bc}	5,33 ^{ab}	4,00 ^a	3,56 ^a	4,00 ^{de}	3,33 ^a	14,94
	2	4,45 ^{bc}	6,00 ^{cd}	4,00 ^a	3,78 ^a	3,33 ^{abcd}	3,22 ^a	14,11
	3	4,44 ^{bc}	6,08 ^{cd}	4,11 ^a	3,56 ^a	2,89 ^{abc}	3,33 ^a	13,33
70:30	1	4,40 ^{ab}	6,08 ^{cd}	4,00 ^a	3,67 ^a	3,56 ^{cd}	3,11 ^a	14,23
	2	4,45 ^{bc}	6,75 ^e	4,11 ^a	3,67 ^a	3,00 ^{abc}	2,89 ^a	13,27
	3	4,47 ^{bc}	5,70 ^{bc}	4,00 ^a	3,56 ^a	2,67 ^a	2,89 ^a	12,59

Ghi chú: các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % theo kiểm định Duncan

Sau 24 giờ lên men, chủng HCGT31 sinh acid và làm giảm pH trên tất cả các nghiệm thức khảo sát. Kết quả Bảng 8 cho thấy, lượng acid sinh ra nằm trong khoảng 5,10 g/kg là thấp nhất và đến 6,75 g/kg là cao nhất. Trong đó, nghiệm thức tỉ lệ nấm và nếp 7:3 w/w, nồng độ muối 2% có hàm lượng acid sinh ra cao nhất 6,75 g/kg, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức: tỉ lệ nấm và nếp 5:5 w/w, nồng độ muối 1 %, 2 %; tỉ lệ nấm và nếp 4:6 w/w, 1 % muối. Nếp cung cấp nguồn tinh bột như là một nguồn dinh dưỡng thêm cho vi khuẩn ngoài nguồn dinh dưỡng từ nấm. Việc không bổ sung nếp thì quá trình lên men vẫn thực hiện được, tuy nhiên việc bổ sung quá ít nếp sẽ làm cho cấu trúc của sản phẩm không đạt, trong khi quá nhiều nếp có thể làm ức chế quá trình lên men, dẫn đến sản phẩm không đạt chất lượng mong muốn. Mặt khác, trong các quá trình lên men có nguồn gốc từ thực vật có thể mà không cần bổ sung muối, mặc dù muối giúp ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gây hỏng và các vi sinh vật không mong muốn khác, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn lactic phát triển. Hơn nữa, việc bổ sung muối như một thành phần rất quan trọng tạo nên hương vị cho sản phẩm cuối cùng. Trong hầu hết các nghiên cứu, muối được thêm vào với lượng (2-4) % so với khối lượng nguyên liệu thô [26-28]. Tuy

nhiên, lượng sử dụng còn phụ thuộc vào từng kiểu lên men và sở thích của người tiêu dùng.

Kết quả đánh giá cảm quan từ 15 thành viên cho thấy sau 24 giờ lên men, điểm trung bình cảm quan màu sắc và mùi không có khác biệt lớn giữa các nghiệm thức. Sản phẩm có màu tươi đẹp đặc trưng của nấm và nếp, có mùi thơm đặc trưng và không xuất hiện mùi lạ của nem chua. Tuy nhiên, về cấu trúc, các tỉ lệ nấm và nếp là 40:60 và 70:30 có điểm trung bình thấp hơn các tỉ lệ 50:50 và 60:40. Cụ thể, điểm cảm quan cấu trúc thấp nhất là 2,89 ở nghiệm thức tỉ lệ nấm:nếp là 4:6, 3 % muối và nấm:nếp là 70:30, 2 % và 3 % muối. Nguyên nhân do tỉ lệ nấm:nếp khác nhau làm cấu trúc nem chua khác nhau, lượng nếp quá nhiều làm nem quá dính, mất đi mùi vị nấm, còn lượng nếp quá ít thì nem chưa đạt được độ kết dính phù hợp. Ngược lại, lượng nếp trong các mẫu nem vừa đủ sẽ giúp định hình tốt, mẫu nem có độ dẻo nhất định và khả năng kết dính cao. Về cảm quan vị, điểm trung bình từ 2,67 đến 4,44. Ngoài vị đặc trưng của nem thì lượng muối cũng ảnh hưởng đến giá trị cảm quan, các nghiệm thức có nồng độ muối cao thì điểm cảm quan vị thấp hơn. Trong đó, nghiệm thức tỉ lệ nấm và nếp là 5:5, nồng độ muối 1 % có điểm cảm quan vị cao nhất là 4,44, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại và điểm cảm quan cấu trúc cao

(3,33). Vậy nên, nghiệm thức tỉ lệ nấm:nếp là 50:50 w/w và nồng độ muối 1 % là phù hợp cho quá trình lên men cũng như giá trị cảm quan của nem chua NSV.

4 Kết luận

Nghiên cứu đã tuyển chọn được chủng vi khuẩn lactic HCGT31 trong 10 chủng LAB có khả năng lên men trong môi trường nem chua thử nghiệm với hàm lượng acid lactic cao nhất. Nếp Thái thơm là loại nếp được

chọn để phối trộn với NSV theo tỉ lệ 50:50 w/w, bổ sung 1 % w/w muối, 1,5 % w/w đường sucrose, 5 % w/w dầu thực vật, 8% w/w tỏi băm nhuyễn, 1,5 % w/w tiêu xay và lên men trong điều kiện ở 37 °C với hàm lượng giống bổ sung là 0,4 % v/w đạt mật số giống chủng 10^7 tế bào/mL. Kết quả đã tạo ra thành phẩm nem chua từ NSV với màu sắc đặc trưng của nấm và nếp, mang mùi vị nem chua, có độ dẻo nhất định và khả năng kết dính cao giống như nem chua thịt.

Tài liệu tham khảo

1. Ryu, J. S., Kim, M. K., Im, C. H., & Shin, P. G. (2015). Development of cultivation media for extending the shelf-life and improving yield of King Oyster Mushrooms (*Pleurotus eryngii*). *Scientia Horticulturae*, 193, 121-126.
2. Zhang, B., Li, Y., Zhang, F., Linhardt, R. J., Zeng, G., & Zhang, A. (2020). Extraction, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Pleurotus eryngii*: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 1342-1347.
3. Chen, J., Yong, Y., Xia, X., Wang, Z., Liang, Y., Zhang, S., & Lu, L. (2014). The excreted polysaccharide of *Pleurotus eryngii* inhibits the foam-cell formation via down-regulation of CD36. *Carbohydrate Polymers*, 112, 16-23.
4. Li, S., & Shah, N. P. (2016). Characterization, antioxidative and bifidogenic effects of polysaccharides from *Pleurotus eryngii* after heat treatments. *Food Chemistry*, 197, 240-249.
5. Venturini M. E., Reyes J. E., Rivera C. S., Oria R., and Blanco D. (2011). Microbiological quality and safety of fresh cultivated and wild mushrooms commercialized in Spain. *Food Microbiology*, 28(8), 1492-1498.
6. Guo, Y., Chen, X., Gong, P., Wang, R., Qi, Z., Deng, Z., & Li, N. (2023). Advances in postharvest storage and preservation strategies for *Pleurotus eryngii*. *Foods*, 12(5), 1046.
7. Zheng, H. G., Chen, J. C., & Ahmad, I. (2018). Preservation of King Oyster Mushroom by the use of different fermentation processes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13396.
8. Chockchaisawasdee, S., Namjaidee, S., Pochana, S., & Stathopoulos, C. E. (2010). Development of fermented oyster-mushroom sausage. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(1), 35-43.
9. Trương Thị Thúy Nguyên, Lê Thị Minh Thư, Trần Ngọc Hân, Nguyễn Thị Mỹ Tiên, Mai Hoài Anh, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long, Huỳnh Xuân Phong. (2020). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic và ứng dụng trong lên men nem chua nấm rơm (*Volvariella volvacea*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 225(01), 3-10.
10. Huỳnh Xuân Phong, Lê Thị Minh Thư, Lý Thị Thùy Duyên, Lưu Minh Châu, Bùi Hoàng Đăng Long, Nguyễn Ngọc Thanh. (2021). Nghiên cứu điều kiện lên men nem chua nấm sò (*Pleurotus ostreatus*) sử dụng vi khuẩn lactic. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 9(130), 64-70.
11. Nguyễn Thanh Huyền, Lê Thị Mai Anh, Nguyễn Thị Bích Thùy, Ngô Xuân Nghiễn, Trần Thị Đào, Phạm Thị Thu Trang, Vũ Thị Ly, Nguyễn Hoàng Anh, Hoàng Hải Hà, Đỗ Thị Hạnh, Nguyễn Xuân Cảnh. (2021). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic và ứng dụng trong thử nghiệm chế biến tạo sản phẩm nấm sò lên men. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 19(3), 379-388.
12. Nguyen, L., & Hwang, E. S. (2016). Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt supplemented with aronia (*Aronia melanocarpa*) juice. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21(4), 330.

13. Tiêu chuẩn Việt Nam: TCVN 3215:1979. (1979). Sản phẩm thực phẩm – Phân tích cảm quan. Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước ban hành.
14. Rault, A., Bouix, M., & Béal, C. (2009). Fermentation pH influences the physiological-state dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-controlled culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(13), 4374-4381.
15. Akyuz, M., & Kirbag, S. (2009). Nutritive value of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) quel. var. *eryngii* grown on various agrowastes. *Philippine Agricultural Scientist*, 92(3), 327-331.
16. Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., & Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548-556.
17. Zhao, Y., Wang, Y., Song, Z., Shan, C., Zhu, R., & Liu, F. (2016). Development of a simple, low-cost and eurytopic medium based on *Pleurotus eryngii* for lactic acid bacteria. *AMB Express*, 6, 1-8.
18. Kim, D., Ko, Y. H., Chung, H. C., & Han, G. D. (2015). Straightforward bacterial-fungal fermentation between *Lactobacillus plantarum* and *Pleurotus eryngii* for synergistic improvement of bioactivity. *Food Science and Biotechnology*, 24, 607-610.
19. Yan, P. M., Xue, W. T., Tan, S. S., Zhang, H., & Chang, X. H. (2008). Effect of inoculating lactic acid bacteria starter cultures on the nitrite concentration of fermenting Chinese paocai. *Food Control*, 19(1), 50-55.
20. Lee, J. J., Choi, Y. J., Lee, M. J., Park, S. J., Oh, S. J., Yun, Y. R., & Lee, M. A. (2020). Effects of combining two lactic acid bacteria as a starter culture on model kimchi fermentation. *Food Research International*, 136, 109591.
21. Ahmed T., Kanwal R., and Ayub N. Influence of temperature on growth pattern of *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and *Lactobacillus acidophilus* isolated from Camel milk. *Biotechnology*, 5 (2006) 481-488.
22. Sheeladevi, A., & Ramanathan, N. (2011). Lactic acid production using lactic acid bacteria under optimized conditions. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 2(6), 1686-1691.
23. Yang E., Fan L., Yan J., Jiang Y., Doucette C., Fillmore S., and Walker B. (2018). Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*, 8(1), 1-14.
24. Nguyen K. C., Nguyen L. T., Ha D. A. T., Le D. H., Le M. B., Nguyen S. V., Ha K. H., Bui D. M., and Nguyen L. T. (2007). Vietnamese food composition table. Hanoi Medical Publishing House. Hanoi.
25. Lee, J. S., Sreenivasulu, N., Hamilton, R. S., & Kohli, A. (2019). Brown rice, a diet rich in health promoting properties. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 65(Supplement), S26-S28.
26. Skapska, S., Owczarek, L., Jasinska, U., Hałasinska, A., Danielczuk, J., & Sokołowska, B. (2008). Changes in the antioxidant capacity of edible mushrooms during lactic acid fermentation. *Food Science Technology Quality*, 4(59), 243-250.
27. Liu, Y., Xie, X.-x., Ibrahim, S. A., Khaskheli, S. G., Yang, H., Wang, Y.-f., & Huang, W. (2016). Characterization of *Lactobacillus pentosus* as a starter culture for the fermentation of edible oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *LWT - Food Science and Technology*, 68, 21-26.
28. Zheng, H.-G., Chen, J.-C., & Ahmad, I. (2018). Preservation of king oyster mushroom by the use of different fermentation processes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13396.

Experimental Studies on the Fermentation of King Oyster Mushrooms (*Pleurotus eryngii*) Utilizing Lactic Acid Bacteria

Luu Minh Chau^{1,*}, Nguyen Thi My Tien¹, Bui Hoang Dang Long¹, Doan Thi Kieu Tien², Nguyen Van Thanh¹, Huynh Xuan Phong¹, Nguyen Ngoc Thanh^{1,**}

¹Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

²Faculty of Biochemical and Food Technology, Can Tho University of Technology

*lmchau@ctu.edu.vn, **nnthanh@ctu.edu.vn

Abstract The king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) is an edible mushroom with high nutritional and medicinal value; large fruiting body, attractive shape, firm and thick flesh, and a slight crunch. This study was conducted to select lactic acid bacteria (LAB) strains that are capable of fermenting and determine suitable conditions for fermenting king oyster mushrooms. Ten LAB strains were selected, and the experimental conditions included incubation temperature (room temperature, 30 °C, and 37 °C), bacterial density (10^3 , 10^5 , and 10^7) cells/g, kinds of glutinous rice (Thai sticky rice, Thai fragrant sticky rice, Long An sticky rice, Cai hoa vang sticky rice, brown sticky rice), mushroom-to-sticky rice ratio (40:60, 50:50, and 60:40 w/w), and salt concentration (1 %, 2 %, and 3 % w/w). The results showed that HCGT31 strain had the highest lactic acid production after 2 days of fermentation (19.05 g/L). The optimal fermentation conditions for king oyster mushrooms were at 37 °C and an inoculum density of 10^7 cells/g, using Thai fragrant sticky rice with a ratio of mushroom and glutinous rice of 50:50 w/w and 1 % w/w salt concentration. The product after 24 h of fermentation had an acid content of 7.43 g/L, a pH of 4.44, and a total sensory evaluation score of 15.89/20 according to TCVN3215:79.

Keywords Lactic acid fermentation, king oyster mushroom, fermented mushroom, *Pleurotus eryngii*, lactic acid bacteria.

Nghiên cứu công thức chế biến phô mai tươi từ sữa dê

Lê Thị Kim Loan^{1*}, Nguyễn Minh Đức¹, Phạm Văn Thái²

¹Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang, Việt Nam

²Chi cục Phát triển nông thôn, Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tỉnh Tiền Giang, Việt Nam

*lethikimloan@tgu.edu.vn

Tóm tắt

Mục tiêu của nghiên cứu gồm (1) khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ sữa dê đồng tụ, tỷ lệ (20, 30, 35, 40, và 45) % và (2) khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn bột bắp (9, 10, và 11) % và bơ (1, 2, và 3) % đến cấu trúc và giá trị cảm quan sản phẩm phô mai tươi từ sữa dê. Kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng 40 % sữa dê đồng tụ trên tổng lượng sữa dê sử dụng đã tạo ra sản phẩm có cấu trúc mềm, mịn, có giá trị cảm quan tốt. Tuy nhiên, khi lượng sữa dê đồng tụ sử dụng vượt quá 40 % làm cho sản phẩm có mùi sữa dê nồng và giảm độ chấp nhận của người tiêu dùng. Ngược lại, tỷ lệ sữa dê thấp hơn 40 % làm cho sản phẩm có cấu trúc quá mềm. Tương tự, lượng bột bắp và bơ sử dụng tương ứng là 10 % và 2 % tạo ra sản phẩm có cấu trúc tốt và hài hòa về mùi vị của sản phẩm. Điểm cảm quan về cấu trúc, mùi, và vị tương ứng là 4,24, 4,39, và 4,21. Nghiên cứu là tiền đề để chế biến đa dạng các sản phẩm từ sữa dê và là cơ sở để có thể tối ưu, thương mại hóa sản phẩm trong tương lai.

Nhận 02/09/2024
Được duyệt 28/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
cảm quan, cấu trúc,
công thức, phô mai tươi,
sữa dê

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Sữa và các sản phẩm chế biến từ sữa đóng vai trò quan trọng trong cuộc sống của con người. Ngoài sữa bò, sữa dê là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng gần như tốt nhất. Sữa dê chứa nhiều amino acid thiết yếu mà cơ thể người không tự tổng hợp được như tryptophan, lysine, valine, isoleucine, cystine, tyrosine,... Sữa dê chứa rất ít hoặc không có thành phần alpha-s1-casein (có nhiều trong sữa bò và là nguyên nhân chính gây ra tình trạng dị ứng sữa) [1]. Chất béo trong sữa dê tốt hơn so với sữa bò ở hàm lượng các acid béo chưa bão hòa (mono và poly) cũng như triglyceride chuỗi trung bình, các chất này rất có lợi cho sức khỏe con người [1, 2]. Đặc biệt, kích thước hạt cầu béo của sữa dê nhỏ hơn sữa bò, sữa dê giàu acid béo chuỗi ngắn và chuỗi trung bình, giúp cho enzyme lipase trong ruột dễ dàng phân

hủy, được cơ thể hấp thu và chuyển hóa nhanh thành năng lượng. Do vậy, chất béo của sữa dê được tiêu hóa, hấp thu nhanh hơn sữa bò. Sữa dê còn giàu các vitamin (A, D, B6, B12,... và vitamin A trong sữa dê ở dạng "sơ khai" nên cơ thể không cần đến công đoạn chuyển hóa, từ đó giúp cơ thể tăng khả năng chuyển hóa năng lượng) và chất khoáng (Ca, P, Mg, Fe, Cu, Zn,... đặc biệt Ca và Fe trong sữa dê ít tương tác ức chế hấp thu lẫn nhau) [3]. Ngoài ra, sữa dê giàu Omega-6 cần thiết cho quá trình hoàn thiện não bộ của trẻ nhỏ. Sữa dê ít cholesterol nên tốt cho sức khỏe tim mạch. Trong sữa dê có sẵn gốc đường oligosaccharides (một prebiotic được tìm thấy trong sữa mẹ) còn được gọi là chất xơ hoà tan, giúp hạn chế táo bón, kích thích tăng sinh hệ vi khuẩn có lợi trong đường ruột [3, 4]. Sữa dê được coi là thức uống bổ dưỡng và lành mạnh, giàu protein,

khoáng chất, vitamin [2]. Một số sản phẩm được chế biến từ sữa dê hiện nay gồm sữa dê cô đặc dạng viên, yaourt sữa dê sấy thăng hoa, bánh flan sữa dê,...

Phô mai là sản phẩm được chế biến từ sữa khá phổ biến ở Việt Nam nhưng chủ yếu được làm từ sữa bò [5]. Sản phẩm phô mai đã được nhập khẩu vào Việt Nam từ vài chục năm trước đây. Hiện nay, sản phẩm phô mai đang được các công ty như Fonterra Co-operative, Lactalis, Bel,... chú trọng phát triển thị phần tại Việt Nam. Với những tính chất ưu việt của sữa dê thì việc tìm một công thức đơn giản và đáng tin cậy để kiểm soát chất lượng sản phẩm là điều quan trọng. Các nghiên cứu đã cho thấy rằng, khả năng chế biến phô mai từ sữa dê còn hạn chế do đặc tính đông tụ và mùi nồng [1, 2, 4]. Sử dụng lượng sữa hợp lý kết hợp với các polysaccharides thích hợp sẽ làm thay đổi giá trị cảm quan, cấu trúc của sản phẩm. Đặc tính của polysaccharides tương đối phức tạp do sự tương tác với casein, chất béo và nước trong cấu trúc. Các sản phẩm phô mai được chế biến với nhiều quy trình và hương vị khác nhau để đáp ứng được nhu cầu của người tiêu dùng ngày càng cao về màu sắc, mùi vị, hình dáng và quan trọng là về giá trị dinh dưỡng mà nó mang lại [6]. Do đó, việc nghiên cứu công thức sản xuất phô mai tươi từ sữa dê được thực hiện nhằm tạo ra một sản phẩm có chất lượng tốt, đáp ứng được nhu cầu của người tiêu dùng.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Sữa dê tươi với hàm lượng chất khô là 12,5 %, được mua từ Hợp tác xã Nông nghiệp Đông Nghi, xã Tam Hiệp, Châu Thành, Tiền Giang. Bơ lát tự nhiên (TH true Milk), muối Biên Hòa, Rennet – Chất đông tụ casein (Junket), tinh bột bắp (Tài Ký), sữa bột Meiji và natri polyphosphate (sử dụng cho thực phẩm) được mua tại cửa hàng làm bánh ở tỉnh Tiền Giang.

2.2 Quy trình chế biến

Quy trình chế biến phô mai tươi từ sữa dê được thể hiện theo quy trình tổng quát như sau: Sữa tươi --> Lọc --> Thanh trùng --> Đông tụ --> Lọc --> Phối chế --> Đồng hóa --> Gia nhiệt --> Khuấy trộn --> Rót khuôn --> Ổn định --> Sản phẩm.

Một số yêu cầu về nguyên vật liệu như sau: sữa tươi được vắt từ con dê không bị bệnh, không lẫn máu, bụi, các tạp chất khác và đảm bảo sạch. Rennet sử dụng là Junket Rennet 0.23 Oz/6,5 gr, đảm bảo có nguồn gốc rõ ràng, còn hạn sử dụng, không bị hư. Tinh bột bắp, bơ, sữa bột, muối ăn còn hạn sử dụng, không lẫn tạp chất, không bị hư hỏng. Phụ gia natri polyphosphate là phụ gia sử dụng trong thực phẩm, còn hạn sử dụng, không bị hư hỏng.

2.3 Bố trí thí nghiệm

2.3.1 Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ sữa đông tụ bổ sung đến cấu trúc và giá trị cảm quan của phô mai

Quy trình đông tụ sữa dê: sữa dê tươi sau thu nhận được lọc bằng vải để loại bỏ tạp chất. Thanh trùng sữa bằng nước nóng ở nhiệt độ 70 °C trong 60 giây. Dung dịch sữa sau khi thanh trùng được làm nguội đến nhiệt độ (22-24) °C. Rennet (0,1 %) đã được hoà tan và cho vào dung dịch sữa để bắt đầu quá trình đông tụ. Trong quá trình đông tụ, dung dịch được đậy kín bằng màng bọc thực phẩm và ủ ở nhiệt độ (18-22) °C trong khoảng (4-6) giờ để sữa đông tụ hoàn toàn. Sau đó, dịch sữa đã đông tụ được tiến hành lọc để loại bỏ nước, thu lại phần sữa đông tụ.

Sữa dê tươi và sữa dê đã đông tụ được phối trộn với tỷ lệ sữa dê đông tụ thay đổi từ 25 % (A1), 30 % (A2), 35 % (A3), 40 % (A4), và 45 % (A4) kết hợp tinh bột bắp (9 %), bơ (1 %), muối (1 %) và sữa bột (3 %). Tất cả tỷ lệ nguyên liệu thêm vào được tính trên lượng dung dịch sữa tươi sử dụng. Hỗn hợp được đồng hóa thành một khối đồng nhất, sau đó được gia nhiệt và khuấy trộn đến khi tạo thành dung dịch dạng sệt. Dung dịch sau khi gia nhiệt được rót vào khuôn để nguội, ổn định trong tối thiểu 12 giờ, nhiệt độ dưới 6 °C và bảo quản. Sản phẩm được đo cấu trúc và đánh giá cảm quan.

2.3.2 Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ tinh bột bắp và bơ đến chất lượng sản phẩm

Quy trình chế biến phô mai tươi từ sữa dê được thực hiện tương tự như quy trình tổng quát với tỷ lệ sữa đông tụ được chọn ở thí nghiệm 2.3.1. Thí nghiệm được thực hiện với hai nhân tố là tỷ lệ bột bắp kết hợp với tỷ lệ bơ. Tỷ lệ bột bắp được sử dụng là 9 % (B1), 10 % (B2), và 11 % (B3) và tỷ lệ bơ sử dụng thay đổi từ 1 % (C1), 2 % (C2), và 3 % (C3). Sản phẩm sau khi đồng hóa, gia

nhệt và rót khuôn, ổn định được thu nhận và kiểm tra cấu trúc, giá trị cảm quan.

2.4 Phương pháp đo cấu trúc: độ cứng của mẫu phô mai được xác định dựa trên lực tác động của đầu đo lên miếng phô mai. Sử dụng đầu đo TA7 của thiết bị đo cấu trúc CT3. Độ cứng được lấy tại đỉnh cao nhất trên biểu đồ của máy đo dựa trên số kgf (kilogram-force) tác

động lên mẫu phô mai từ khi tiếp xúc với bề mặt miếng phô mai đến khi đi được quãng đường 5 mm trên tổng chiều dày của miếng phô mai đem đo cấu trúc.

2.5 Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan màu sắc, mùi, vị, cấu trúc của sản phẩm theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79. Sử dụng hệ 20 điểm xây dựng trên một thang thống nhất có 6 bậc (từ 0-5) và điểm 5 là cao nhất cho một chỉ tiêu.

Bảng 1 Xây dựng bảng tiêu chuẩn đánh giá các chỉ tiêu cảm quan đối với sản phẩm phô mai tươi từ sữa dê

Chỉ tiêu	Điểm	Cơ sở đánh giá
Màu sắc	5	Sản phẩm có màu trắng đặc trưng của phô mai tươi
	4	Sản phẩm có màu trắng kém đặc trưng của phô mai tươi
	3	Sản phẩm có màu hơi ngả vàng
	2	Sản phẩm có màu vàng nhạt
	1	Sản phẩm có màu vàng
	0	Sản phẩm có màu vàng sậm hoặc màu lạ
Mùi	5	Sản phẩm có mùi đặc trưng của sữa dê nhưng không quá nồng
	4	Sản phẩm có mùi đặc trưng của sữa dê nhưng quá nồng
	3	Sản phẩm có mùi sữa dê ít
	2	Sản phẩm có mùi sữa dê rất ít
	1	Sản phẩm không có mùi sữa dê
	0	Sản phẩm có mùi lạ.
Vị	5	Vị mặn, béo vừa phải
	4	Vị hơi mặn, hơi béo
	3	Vị mặn, không béo
	2	Vị nhạt
	1	Vị quá mặn hoặc quá béo
	0	Vị đắng
Cấu trúc	5	Khối đông có cấu trúc mềm, dẻo, mịn của phô mai tươi
	4	Khối đông có cấu trúc tương đối mềm, dẻo, mịn của phô mai tươi
	3	Khối đông có cấu trúc tương đối mềm, hơi dẻo, mịn
	2	Khối đông có cấu trúc hơi mềm hoặc hơi cứng, hơi dẻo, kém mịn
	1	Khối đông có cấu trúc quá mềm hoặc quá cứng hoặc quá dẻo, không mịn
	0	Sản phẩm không có cấu trúc cố định hoặc rất cứng

2.6 Phương pháp xử lý thống kê

Tất cả các số liệu trong thí nghiệm được tiến hành xử lý bằng phần mềm Stagraphics 19 để xác định mức độ sai khác có ý nghĩa của mẫu trong từng thí nghiệm. Kết quả của thí nghiệm trước làm cơ sở cho thí nghiệm sau, từ đó chọn các thông số tối ưu cho toàn bộ thí nghiệm.

3 Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ sữa đông tụ đến cấu trúc và giá trị cảm quan của phô mai

Sữa đông tụ là thành phần quan trọng, có ảnh hưởng lớn đến cấu trúc và giá trị cảm quan của phô mai. Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ sữa đông tụ đến cấu trúc và giá trị cảm quan của sản phẩm được thể hiện ở Bảng 2. Tỷ lệ sữa đông tụ càng cao thì cấu trúc của khối phô mai càng cứng hơn và ngược lại. Độ cứng của khối phô mai phụ thuộc vào tỷ lệ đông tụ của sữa [7]. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng cấu trúc của sản phẩm phô mai sẽ phụ thuộc vào thành phần protein, chất béo cũng như quá trình nấu và đông tụ sữa [8]. Do các hạt chất béo và casein có kích thước nhỏ hơn, sữa dê dễ tiêu hóa

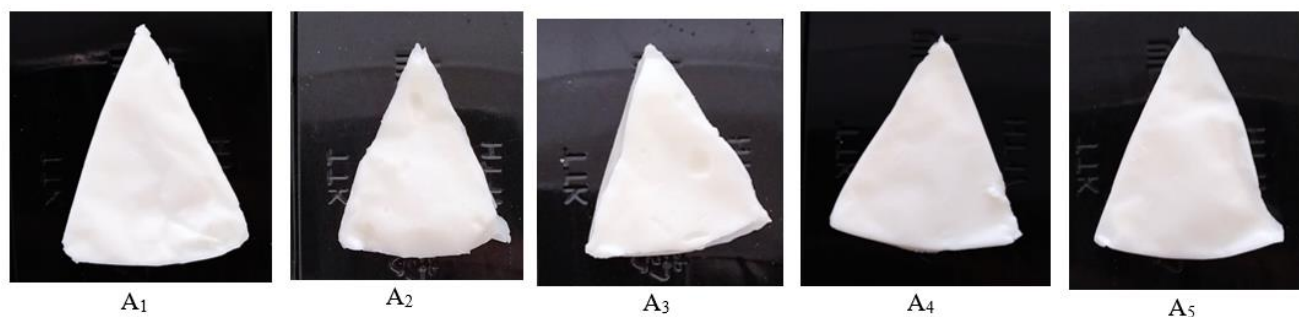
và hấp thụ hơn đối với cơ thể con người so với sữa bò [9]. Ở châu Âu, gần như toàn bộ sữa dê đều được chế biến thành phô mai, chiếm 35 % sản lượng phô mai trên thế giới [10]. Tuy nhiên, sữa dê cho thấy đặc tính đông

tụ kém hơn sữa bò do hàm lượng casein thấp, đặc biệt là tỷ lệ $\alpha S1$ -CN [1]. Do đó, xác định tỷ lệ sữa đông tụ phù hợp trong quá trình chế biến vừa đảm bảo cấu trúc và vừa đảm bảo giá trị cảm quan cho sản phẩm.

Bảng 2 Kết quả đánh giá cảm quan và cấu trúc của phô mai khi thay đổi tỷ lệ sữa đông tụ

Mẫu	Tỷ lệ sữa đông tụ (%)	Độ cứng (g)	Điểm đánh giá cảm quan		
			Mùi	Vị	Cấu trúc
A1	25	59,3 ^a	3,76 ^a	3,62 ^a	3,79 ^a
A2	30	71,0 ^b	3,81 ^a	3,66 ^a	3,85 ^a
A3	35	81,0 ^c	3,90 ^{ab}	3,71 ^a	3,90 ^a
A4	40	89,6 ^d	4,04 ^b	4,14 ^b	4,04 ^a
A5	45	110,3 ^e	3,86 ^a	3,80 ^a	3,95 ^a
F		**	*	**	ns

Ghi chú: các giá trị trên cùng một cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, (*) khác biệt ở mức ý nghĩa 5 %, (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1 %, (ns): không có sự khác biệt.



Hình 1 Cấu trúc của phô mai khi thay đổi tỷ lệ sữa đông tụ

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy khi sử dụng tỷ lệ sữa đông tụ càng cao càng ảnh hưởng đến mùi, vị và cấu trúc của sản phẩm. Về mùi, nếu lượng sữa đông tụ càng lớn thì mùi sữa dê trong khối phô mai còn rất nồng và nếu tỷ lệ sữa đông tụ trong khối phô mai càng thấp thì mùi sữa dê sẽ giảm. Về vị, tỷ lệ sữa đông tụ sẽ tỷ lệ nghịch với độ mặn của khối phô mai. Với cùng nồng độ muối (1 %) và lượng sữa dê 100 mL thì khối phô mai có tỷ lệ sữa đông tụ cao hơn có vị nhạt hơn và ngược lại. Đồng thời, kết quả cũng xác định tỷ lệ sữa đông tụ càng cao thì càng làm gia tăng độ cứng. Tuy nhiên, ở tỷ lệ sữa đông tụ quá cao thì độ cứng cũng quá lớn dẫn đến cấu trúc cứng, không phù hợp. Cụ thể như sau:

Đối với mẫu có 25 % sữa đông tụ: cấu trúc của khối đông rất mềm, độ cứng đạt 59,3 kgf (1 kgf tương đương với 9.80665 N). Điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc thấp 3,79. Sản phẩm không có mùi sữa dê, chỉ có mùi sữa bột do tỷ lệ (%) chất khô của sữa bột cao.

Điểm trung bình đánh giá cảm quan về mùi thấp 3,76. Sản phẩm có vị mặn, ít béo nên điểm trung bình đánh giá cảm quan về vị cũng thấp 3,62. Như vậy, ở tỷ lệ sữa đông tụ là 25 % sản phẩm có mùi, vị, cấu trúc chưa thích hợp nên hội đồng cảm quan đánh giá thấp ở cả ba chỉ tiêu.

Đối với mẫu có 30 % và 35 % sữa đông tụ: Cấu trúc của khối phô mai lần lượt là tương đối mềm và hơi mềm, độ cứng đo được đạt giá trị tương ứng là 71 kgf và 81 kgf. Điểm trung bình đánh giá cảm quan tương đối thấp, lần lượt đạt 3,85 và 3,9. Cụ thể, mẫu 35 % sữa đông tụ có mùi sữa dê nhiều hơn mẫu 30 % và mẫu 25 % trước đó, nhưng do tỷ lệ còn khá ít nên mùi sữa dê tương đối, mùi sữa bột vẫn còn khá nhiều, điểm trung bình đánh giá cảm quan về mùi cũng tương đối thấp, đạt 3,57 và 3,80. Xét về vị, ở tỷ lệ 35 % sản phẩm có vị ít mặn hơn 2 tỷ lệ 25 % và 30 % do nồng độ chất khô nhiều hơn, điểm trung bình đánh giá cảm quan về vị ở

tỷ lệ 35 % là 3,71, cao hơn so với tỷ lệ 30 % là 3,66. Như vậy, ở tỷ lệ sữa đông tụ là 30 % và 35 % sản phẩm có mùi, vị, cấu trúc chưa thích hợp nên hội đồng đánh giá tương đối thấp ở 3 chỉ tiêu.

Đối với mẫu 40 % sữa đông tụ: Cấu trúc khối phô mai mềm, với độ cứng đo được là 89,6 kgf. Điểm đánh giá cảm quan về cấu trúc đạt 4,04, cao hơn các mẫu còn lại. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về điểm đánh giá cảm quan về cấu trúc giữa các mẫu. Về mùi, khối phô mai có mùi thơm giữa mùi sữa dê đặc trưng và mùi sữa bột, nên điểm đánh giá trung bình cảm quan về mùi cao, đạt 4,29. Về vị, khối phô mai có vị mặn vừa phải, vị ít béo do sữa dê không có nhiều chất béo như sữa trâu, sữa lạc đà hay sữa mẹ, ..., điểm cảm quan trung bình về vị đạt 4,14. Vì vậy, ở tỷ lệ sữa đông tụ là 40 %, sản phẩm có mùi, vị, cấu trúc thích hợp nên hội đồng đánh giá cao cả 3 chỉ tiêu.

Đối với mẫu 45 % sữa đông tụ: cấu trúc phô mai có cấu trúc hơi cứng, độ cứng đo được là 110,3 kgf, do tỷ lệ sữa đông tụ quá nhiều làm cho cấu trúc phô mai cứng hơn, tức là % chất khô trong khối phô mai nhiều hơn các mẫu có tỷ lệ sữa đông tụ thấp. Điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc đạt 3,95. Về mùi, ở tỷ lệ này mùi sữa dê lấn át hoàn toàn mùi sữa bột, vì vậy khối phô mai có mùi sữa dê nồng và tanh hơn các mẫu trước, điểm đánh giá cảm quan về mùi ở tỷ lệ này là 3,43. Về vị, do bổ sung sữa đông tụ ở tỷ lệ cao, nồng độ chất khô trong khối phô mai cao, từ đó vị của khối phô mai bị nhạt, điểm đánh giá cảm quan về vị thấp, đạt 3,80.

Từ những số liệu thống kê và phân tích trên, tỷ lệ sữa đông tụ chọn để làm thí nghiệm tiếp theo là 40 %. Vì ở tỷ lệ sữa đông tụ nhỏ hơn 40 %, sản phẩm phô mai có cấu trúc rất mềm, mùi vị kém; điểm trung bình đánh giá cảm quan thấp. Ở tỷ lệ sữa đông tụ 45 %, sản phẩm có cấu trúc hơi cứng, mùi sữa dê nồng, vị nhạt, điểm cảm quan cũng tương đối thấp. Ở tỷ lệ sữa đông tụ 40 %, sản phẩm có cấu trúc mềm, mùi sữa dê và sữa bột hài hòa, vị béo, mặn vừa phải, điểm trung bình đánh giá cảm quan cao.

3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ đến chất lượng sản phẩm

3.2.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ đến giá trị cảm quan về cấu trúc và độ cứng của sản phẩm

Sự thay đổi độ cứng và giá trị cảm quan về cấu trúc của phô mai tươi từ sữa dê được thể hiện ở Bảng 3 và Bảng 4. Tỷ lệ bột bắp và tỷ lệ bơ ảnh hưởng khá lớn đến cấu trúc của sản phẩm. Tỷ lệ bột bắp càng cao khả năng tạo gel càng tốt, cấu trúc sản phẩm mềm. Ngược lại, tỷ lệ bột bắp càng thấp khối phô mai sau ổn định rất mềm và nhiều nước. Trong những năm gần đây, các loại bột chứa polysaccharide ngày càng được chú ý nhiều hơn do có tiềm năng cải thiện cấu trúc và kết cấu của thực phẩm dạng gel gốc protein [11]. Đồng thời, tương tác giữa protein-polysaccharides cũng được nghiên cứu rộng rãi, cung cấp cơ sở lý thuyết cho ứng dụng của nó trong thiết kế các công thức phô mai. Trong phô mai ít béo hoặc gầy, polysaccharides được sử dụng làm chất béo thay thế để đáp ứng cả nhu cầu về kết cấu và sức khỏe [8, 12]. Kết quả đánh giá cảm quan về cấu trúc và độ cứng của sản phẩm khi thay đổi tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ được thể hiện cụ thể ở Bảng 3 và Bảng 4.

Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ bột bắp đến điểm cảm quan về cấu trúc và độ cứng của sản phẩm: ở tỷ lệ bột bắp 9 %, sản phẩm có cấu trúc khá mềm, độ cứng đạt 87,6 kgf, điểm trung bình đánh giá cảm quan tương đối thấp, 3,98, sản phẩm được để ổn định đến ngày thứ 3 thì tất cả các mẫu đều bị tách nước. Khi sử dụng 10 % bột bắp, bột dễ dàng hòa tan vào trong sữa, tạo cấu trúc mềm, độ cứng đạt 90,5 kgf, điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc tương đối cao, đạt 4,07, sản phẩm để ổn định được 5 ngày. Ở tỷ lệ bột bắp 11 %, bột không hòa tan hoàn toàn vào trong sữa, cấu trúc mềm nhưng còn lợn cợn, độ cứng đạt 97,5 kgf, điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc thấp, đạt 3,89. Như vậy, ở tỷ lệ bột bắp càng cao độ cứng càng tăng, khả năng hòa tan vào nước càng giảm. Ở tỷ lệ bột bắp 10 % cho sản phẩm có cấu trúc mềm nhưng không bị mềm quá như ở tỷ lệ 9 % và không xuất hiện các hạt lợn cợn như ở tỷ lệ 11 %, nên được hội đồng cảm quan về cấu trúc đánh giá cao.

Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ bơ đến điểm cảm quan về cấu trúc và độ cứng của sản phẩm: tỷ lệ bơ ảnh hưởng nhiều đến cấu trúc sản phẩm. Ở tỷ lệ bơ càng cao, khả

năng giữ nước càng tốt và làm cho nước trong sản phẩm tăng lên, độ cứng giảm. Bơ được coi là một thành phần có giá trị trong thực phẩm chức năng do hàm lượng lipid phân cực cao. Hơn nữa, bơ là nguồn tuyệt vời với các thành phần có hoạt tính sinh học bao gồm acid linoleic, acid béo thiết yếu, vitamin B12 và riboflavin [13]. Việc kết hợp bơ vào sản phẩm phô mai tươi là rất quan trọng để cải thiện cấu trúc sản phẩm [14]. Ở tỷ lệ 1 %, sản phẩm có cấu trúc hơi mềm, do nước trong sản phẩm ít, độ cứng đạt 93,8 kgf, điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc tương đối thấp, 3,94. Ở tỷ lệ 2 %,

sản phẩm có cấu trúc mềm, nước trong sản phẩm tăng, độ cứng đạt 92,5 kgf, điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc tương đối cao 4,08. Ở tỷ lệ 3 %, sản phẩm có cấu trúc hơi quá mềm, nước trong sản phẩm tương đối nhiều, độ cứng đạt 89,0 kgf, nên điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc thấp hơn tỷ lệ 1 % là 3,93. Như vậy, ở tỷ lệ bơ càng cao độ cứng càng giảm. Ở tỷ lệ bơ 2 % cho sản phẩm có cấu trúc mềm vừa phải nên được hội đồng cảm quan về cấu trúc đánh giá cao.

Bảng 3 Kết quả đánh giá cảm quan về cấu trúc của sản phẩm khi thay đổi tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ

Tỷ lệ bột bắp (%)	Tỷ lệ bơ (%)			Trung bình (%)
	1	2	3	
9	3,97 ^a	4,03 ^a	3,94 ^a	3,98 ^{AB}
10	4,00 ^a	4,24 ^b	3,97 ^a	4,07 ^B
11	3,85 ^a	3,97 ^a	3,82 ^a	3,91 ^A
Trung bình	3,94 ^A	4,08 ^B	3,93 ^A	
F (Tỷ lệ bột bắp)	*	F (Tỷ lệ bơ): *		

Bảng 4 Kết quả đo độ cứng của sản phẩm khi thay đổi tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ (g)

Tỷ lệ bột bắp (%)	Tỷ lệ bơ (%)			Trung bình (%)
	1	2	3	
9	90,2 ^{bc}	87,6 ^{ab}	84,9 ^a	87,6A
10	93,2 ^{de}	91,6 ^{cd}	86,6 ^{ab}	90,5B
11	98,6 ^f	98,2 ^f	95,6 ^{ef}	97,5C
Trung bình	93,8 ^B	92,5 ^B	89,0 ^A	
F (Tỷ lệ bột bắp)	**	F (Tỷ lệ bơ): **		

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột/hàng có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, (*) khác biệt ở mức ý nghĩa 5 %, (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1 %.

Tương tác giữa tỷ lệ bột bắp và bơ bổ sung ảnh hưởng đến cấu trúc của sản phẩm phô mai: tỷ lệ bột bắp càng tăng thì độ cứng của phô mai càng lớn. Ngược lại, tỷ lệ bơ càng tăng thì nước giữ lại nhiều nên độ cứng của phô mai càng giảm. Cụ thể khi tỷ lệ bột bắp là 9 %, tỷ lệ bơ bổ sung là 1 % cho sản phẩm có cấu trúc mềm, độ cứng đo được là 90,2 g, cứng hơn so với mẫu có tỷ lệ bơ 2 %, độ cứng đo được 87,6 g và ở tỷ lệ bơ 3 %, sản phẩm có cấu trúc mềm hơn hai tỷ lệ trước với độ cứng đo được là 84,9 g. Do vậy, điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc ở tỷ lệ bột bắp 9 % và bơ ở các tỷ lệ (1, 2 và 3) % cũng khác nhau 3,97; 4,03 và 3,94.

Với tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:1) %, sản phẩm có cấu trúc mềm, độ cứng đo được là 93,2 g, nhưng do tỷ lệ bơ thấp nên sản phẩm ít nước, điểm đánh giá cảm quan về cấu

trúc là 4,0. Tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:2) %, sản phẩm có cấu trúc mềm với độ cứng đo được 91,6 g, lượng nước trong sản phẩm không quá nhiều, nên điểm trung bình đánh giá cảm quan cao đạt 4,24. Tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:3) %, sản phẩm có cấu trúc mềm, độ cứng đo được 86,8 g, lượng nước trong sản phẩm tương đối nhiều, nên điểm trung bình đánh giá cảm quan tương đối cao 3,97.

Ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:1) % sản phẩm có cấu trúc hơi cứng, độ cứng đo được là 98,6 g, lượng nước trong sản phẩm thấp, sản phẩm xuất hiện các hạt lợn cợn do bột bắp không tan hoàn toàn, nên điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc tương đối thấp 3,85. Ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:2) %, sản phẩm có cấu trúc mềm hơn nhưng không nhiều so với tỷ lệ trên nên độ cứng đo

được 76,3 g, điểm trung bình đánh giá cảm quan về cấu trúc tương đối cao 3,97. Tuy nhiên ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:3) %, sản phẩm có cấu trúc mềm hơn, độ cứng đo được 98,2 g, điểm trung bình đánh giá cảm quan thấp 3,82. Như vậy, kết quả Bảng 3 và Bảng 4 cho thấy tỷ lệ bột bắp:bơ phù hợp với sản phẩm được chọn ở thí nghiệm này là 10 % bột bắp và 2 % bơ. Đây là tỷ lệ thích hợp nhất để sản phẩm có cấu trúc mềm với độ cứng thích hợp.

3.2.2 Ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ đến giá trị cảm quan về mùi của sản phẩm: bột bắp và bơ

cũng là thành phần quan trọng trong việc tạo mùi cho sản phẩm. Kết quả ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ đến cảm quan mùi của sản phẩm được thể hiện ở Bảng 5. Khi cho tỷ lệ bột bắp, bơ thấp thì tỷ lệ sữa dê cao nên mùi sữa dê còn nồng, và ngược lại. Tuy nhiên, do tỷ lệ bột bắp và bơ thay đổi ít so với tỷ lệ sữa sử dụng nên ít làm thay đổi kết quả đánh giá cảm quan về vị của sản phẩm. Kết quả đánh giá cảm quan về mùi biến động từ 3,86 đến 4,12. Trong đó, ở tỷ lệ bột bắp là 10 %, bơ là 2 % thì được hội đồng cảm quan đánh giá cao vì ở tỷ lệ này làm giảm mùi sữa dê.

Bảng 5 Kết quả đánh giá cảm quan về mùi của sản phẩm khi thay đổi tỷ lệ phối trộn bột bắp và bơ

Tỷ lệ bột bắp (%)	Tỷ lệ bơ (%)			Trung bình (%)
	1	2	3	
9	3,94 ^{ab}	4,06 ^b	3,97 ^{ab}	3,99 ^{AB}
10	3,94 ^{bc}	4,12 ^c	3,97 ^{bc}	4,00 ^B
11	3,97 ^{bc}	3,88 ^{ab}	3,86 ^a	3,90 ^A
Trung bình	3,95 ^A	4,01 ^B	3,90 ^A	
F (Tỷ lệ bột bắp)	*	F (Tỷ lệ bơ): *		

Ghi chú: các giá trị trên cùng một cột/hàng có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, (*) khác biệt ở mức ý nghĩa 5 %, (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1 %.

3.2.3 Kết quả ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ đến giá trị cảm quan về vị của sản phẩm

Bột bắp và bơ cũng ảnh hưởng khá lớn đến vị của sản phẩm. Kết quả ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn giữa bột bắp và bơ đến giá trị cảm quan về vị của sản phẩm được thể hiện ở Bảng 6. Kết quả cho thấy, tỷ lệ bột bắp càng thấp, độ mặn càng cao và khi tăng tỷ lệ thì độ mặn trong sản phẩm giảm. Tỷ lệ bơ cũng ảnh hưởng độ mặn, độ béo của sản phẩm. Khi tỷ lệ bơ cao, độ béo của sản phẩm cao, độ mặn giảm và ngược lại.

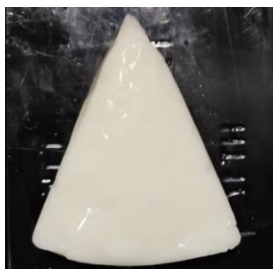
Xét về mức độ tương tác giữa tỷ lệ bột bắp và bơ cho thấy, ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (9:1) % có điểm đánh giá cảm quan về vị là 4,2, sản phẩm có vị hơi mặn; ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (9:2) % có điểm đánh giá là 4,26, tương đối

cao vì vị của sản phẩm bị nhạt đi đáng kể so với tỷ lệ trên; còn ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (9:3) %, sản phẩm có vị nhạt hơn hai tỷ lệ trên, điểm đánh giá cảm quan về vị là 4,23. Ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:1) %, sản phẩm có vị mặn tương đối thấp, điểm đánh giá cảm quan về vị đạt 4,26; ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:2) %, sản phẩm có vị mặn vừa phải, điểm đánh giá cảm quan về vị cao đạt 4,36; ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:3) %, sản phẩm có vị nhạt hơn hai mẫu trên, có điểm đánh giá cảm quan về vị đạt 4,34. Ở tỷ lệ bột bắp:bơ là (11:1) %, (11:2) %, (11:3) %, cho sản phẩm có vị nhạt dần, điểm đánh giá cảm quan về vị lần lượt là 4,10, 4,24 và 4,15. Kết quả phân tích và thống kê cho thấy chọn tỷ lệ bột bắp:bơ là (10:2) % cho sản phẩm có cấu trúc mềm, mùi, vị thích hợp.

Bảng 6 Kết quả đánh giá cảm quan về vị của sản phẩm khi thay đổi tỷ lệ phối trộn bột bắp và bơ

Tỷ lệ bột bắp (%)	Tỷ lệ bơ (%)			Trung bình (%)
	1	2	3	
9	4,20 ^a	4,26 ^a	4,10 ^a	4,19 ^A
10	4,26 ^a	4,36 ^b	4,24 ^a	4,29 ^A
11	4,23 ^a	4,34 ^{ab}	4,15 ^a	4,24 ^A
Trung bình	4,23 ^{AB}	4,32 ^B	4,16 ^A	
F (Tỷ lệ bột bắp)	ns	F (Tỷ lệ bơ): **	F (Tương tác): **	

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một cột/hàng có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, (*) khác biệt ở mức ý nghĩa 5 %, (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1 %, (ns): không có sự khác biệt.



Hình 2 Sản phẩm phô mai tươi từ sữa dê

Sản phẩm hoàn thiện được tiến hành đánh giá một số chỉ tiêu vi sinh thực phẩm theo QCVN 5-3: 2010/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm phô mai (sản xuất từ sữa đã qua xử lý nhiệt). Sản phẩm đạt các chỉ tiêu vi sinh theo quy định hiện hành.

Kết quả phân tích các chỉ tiêu hóa lý của sản phẩm phô mai được thể hiện qua Bảng 7.

Bảng 7 Bảng phân tích chỉ tiêu hóa lý của sản phẩm phô mai

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử nghiệm	Hàm lượng (%)
1	Protein	%	TCVN 8099-1:2015 (ISO 8968-1:2014)	16,6
2	Lipid	%	TCVN 8181:2009 (ISO 1735:2004)	14,6
3	Độ ẩm	%	TCVN 8174:2009	56,9
4	Tro tổng	%	EVN-R-RD-2-TP-3497 (Red FAO FooD 14/7-1986)	2,18
5	Carbohydrates	%	AOAC 986.25 mod	11,7

Theo kết quả phân tích Bảng 7, sản phẩm có hàm lượng protein (16,6 %) và lipid (14,6 %) rất cao. Điều đó khẳng định sản phẩm phô mai dê có giá trị dinh dưỡng và năng lượng rất lớn. Kết quả này gần tương tự như kết quả nghiên cứu trước: phô mai có độ ẩm 55,07 %, protein là 20,43 % và chất béo là 13,25 % [15].

Kết quả đánh giá cảm quan theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79 như trong Bảng 8.

Bảng 8 Điểm đánh giá cảm quan phô mai được làm từ sữa dê theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79

Chỉ tiêu	Điểm trung bình	Hệ số quan trọng	Tổng
Màu sắc	4,5	0,80	3,60
Mùi	4,2	1,10	4,62
Vị	4,4	1,00	4,40
Cấu trúc	4,3	1,10	4,73
Tổng			17,4

Dựa vào bảng đánh giá cảm quan theo TCVN 3215 – 79, cho thấy sản phẩm phô mai làm từ sữa dê được xếp loại khá với số điểm là 17,4. Như vậy sản phẩm đủ điều kiện tiếp tục nghiên cứu khảo nghiệm để hoàn chỉnh qui trình trước khi ứng dụng vào sản xuất thực tế.

4 Kết luận

Sữa dê được ứng dụng hiệu quả trong chế biến sản phẩm phô mai tươi. Công thức phối chế ảnh hưởng mạnh mẽ đến cấu trúc và chất lượng cảm quan của sản phẩm. Nghiên cứu cho thấy khi bổ sung 40 % sữa dê đông tụ trong công thức chế biến với 10 % bột bắp và 2 % bơ đồng kết hợp với muối (1 %) và sữa bột (3 %) đã giúp sản phẩm có cấu trúc mềm mịn hơn và hạn chế được mùi đặc trưng của sữa dê. Nghiên cứu là tiền đề giúp phát triển đa dạng sản phẩm từ sữa dê ở Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Clark S, Sherbon J. (2000). Alphas1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*, 38 (2),123-134.
2. Riskó TC, Csapó Z. (2019). Goat keeping and goat milk products in human nutrition-review. *Abstract: Applied Studies in Agribusiness and Commerce*, 13, 24-36.
3. Masotti F, Battelli G, De Noni I. (2012). The evolution of chemical and microbiological properties of fresh goat milk cheese during its shelf life. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4760-4767.
4. Kılıç S, Uysal H, Kavas G, Akbulut N, Kesenkaş H. (2004). Manufacture and some properties of Turkish fresh goat cheese. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(6), 1037-1039.
5. Nguyễn Thị Ý Nhi, Đỗ Thanh Hiền, NTQ Mai, ĐTM Linh, NTM Tuyền. (2018). Ứng dụng chế phẩm bromelain thu nhận từ phụ phẩm dứa vào quá trình đông tụ sữa tạo phô mai probiotic hương lá dứa. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 54 (1), 20-27.
6. Trần Thanh Tuấn. (2018). Ảnh hưởng của siro dâu tằm ăn (*Morus alba*) đến chất lượng phô mai được chế biến từ sữa dê. *Tạp chí Khoa học và Kinh tế phát triển*, 3, 59-66.
7. Aldalur A, Ong L, Bustamante MÁ, Gras SL, Barron LJR. (2019). Impact of processing conditions on microstructure, texture and chemical properties of model cheese from sheep milk. *Food and Bioproducts Processing*, 116, 160-169.
8. Everard C, O'Callaghan D, Mateo M, O'Donnell C, Castillo M, Payne F. (2008). Effects of cutting intensity and stirring speed on syneresis and curd losses during cheese manufacture. *Journal of Dairy Science*, 91 (7), 2575-2582.
9. Razali MF, Narayanan S, Md. Hazmi NA, Abdul Karim Shah NN, Mustapa Kamal SM, Mohd Fauzi NA, Sulaiman A. (2021). Minimal processing for goat milk preservation: Effect of high-pressure processing on its quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45 (7), e15590.
10. Sepe L, Argüello A. (2019). Recent advances in dairy goat products. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32 (8), 1306.
11. Alavarse AC, Frachini ECG, da Silva RLCG, Lima VH, Shavandi A, Petri DFS. (2022). Crosslinkers for polysaccharides and proteins: Synthesis conditions, mechanisms, and crosslinking efficiency: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 202, 558-596.
12. Ouyang H, Kilcawley KN, Miao S, Fenelon M, Kelly A, Sheehan JJ. (2022). Exploring the potential of polysaccharides or plant proteins as structuring agents to design cheeses with sensory properties focused toward consumers in East and Southeast Asia: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62 (16), 4342-4355.
13. Skryplonek K, Dmytrów I, Mituniewicz-Małek A. (2019). The use of buttermilk as a raw material for cheese production. *International Journal of Dairy Technology*, 72 (4), 610-616.
14. Meghzili B, Benyahia F, Szkolnicka K, Aissaoui-Zitoun O, Foufou E. (2024). Soft Cheese-Making with Buttermilk: Physico-chemical, Sensory, Textural Properties, and Microstructure Characterization. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 11, 82-93.
15. Santos WFD, Cruz GRBD, Costa RGD, Ribeiro NL, Filho EMB, Sousa SD, Justino EDa S, Santos DGD. (2021). Production and quality of cheese and milk of goats fed with guava agroindustrial waste (*Psidium guajava* L.). *Food Science and Technology, Campinas*, 42, e00521: 1-8.

Research on the formula of making fresh cheese from goat milk

Le Thi Kim Loan^{1*}, Nguyen Minh Duc¹, Phạm Văn Thai²

¹ Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University, Viet Nam

² Department of Agriculture and Rural Development, Tien Giang province, , Viet Nam

* lethikimloan@tgu.edu.vn

Abstract The goal of the study is to investigate: (1) the influence of the ratio of coagulated goat milk (20, 30, 35, 40, and 45) % and (2) the influence of the mixing ratio of corn starch (9, 10, and 11) % and butter (1, 2, and 3) % on the texture and sensory properties of fresh cheese product from goat milk. The research results showed that using 40 % of coagulated milk on the total amount of goat milk used created a product with a soft, smooth texture and good sensory properties. However, when the amount of coagulated milk used exceeded 40 %, the product had a strong goat milk smell and reduced consumer acceptance. On the contrary, using coagulated milk ratio lower than 40 % made the product too soft in texture. Similarly, the amount of cornstarch and butter used was 10 % and 2 %, respectively, to create a product with a good texture and an appropriate taste. The sensory scores for texture, odor, and taste were 4.24, 4.39, and 4.21, respectively. The study is a basis for the processing of diverse goat milk products and provides information for product optimization and commercialization.

Keywords sensory, texture, formulation, fresh cheese, goat milk

Tối ưu hóa điều kiện lên men cider từ chanh dây (*Passiflora edulis sims*) bằng mô hình phức hợp trung tâm

Nguyễn Thị Kiều Diễm¹, Lê Hoàng Thanh¹, Châu Văn Đan¹, Trần Bạch Long², Trần Chí Nhân²

¹Khoa Công nghệ – Thủy sản, Trường Cao đẳng Kinh tế – Kỹ thuật Cần Thơ

²Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

*ntkdiem@ctec.edu.vn

Tóm tắt

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định điều kiện lên men chanh dây ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm cider. Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát (i) tỉ lệ dịch quả/nước ở các tỷ lệ 1/1; 1/2 và 1/3 (w/v) và (ii) sử dụng mô hình CCD (Central Composite Design) với các yếu tố được khảo sát bao gồm độ Brix (17-19) °Bx; pH của dịch lên men (3,0-5,0); tỉ lệ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 (0,03-0,05) % (w/v) và thời gian lên men (3-5) ngày. Kết quả nghiên cứu đã xác định được tỉ lệ pha loãng dịch quả/nước là 1/2 (w/v), bên cạnh đó giá trị tối ưu để thực hiện quá trình lên men cider chanh dây với độ Brix của dịch lên men là 18,45; pH = 4,65; tỉ lệ nấm men là 0,038 % (w/v); thời gian là 3,36 (ngày), khi đó sản phẩm cider chanh dây thu được chất lượng tốt, với hàm lượng ethanol đạt được 4,72 % (v/v), các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, độ lệch màu (ΔE) lần lượt là 66,96; 0,73; 27,34; 50,46 và 2,87 và đạt giá trị cảm quan tốt với số điểm là 18,74.

Nhận 30/08/2024
Được duyệt 30/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
Cider, chanh dây,
đồ uống có cồn,
Saccharomyces cerevisiae, tối ưu

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Cider là loại đồ uống hàm lượng cồn tương đối thấp và thường được làm từ nước ép táo, tuy nhiên tùy thuộc vào khí hậu, thời tiết, điều kiện phát triển của từng loại rau quả mà cider có thể sản xuất từ các nguồn trái cây khác nhau với độ cồn thường trong khoảng (3-4) % (v/v) [1]. Cider là loại đồ uống có vị chua thanh, ngọt dịu, đồng thời tùy vào nguyên liệu mà cider mang nhiều hương vị và giá trị dinh dưỡng khác nhau. Đặc biệt, các loại cider khi uống lạnh mang lại trải nghiệm tuyệt vời về mặt cảm quan [2]. Bên cạnh đó, Việt Nam là nước nhiệt đới có nền nông nghiệp phát triển thích hợp cho việc trồng các loại cây ăn quả, việc đa dạng hóa sản phẩm đồ uống có cồn từ trái cây trên thị trường hiện

nay rất được quan tâm. Chanh dây (*Passiflora edulis Sims*) (CD) tím được trồng nhiều ở Việt Nam, nhưng lại là loại trái cây theo mùa, không có quanh năm. Thời gian bảo quản không quá 8 ngày ở 25 °C [3]. CD có giá trị dinh dưỡng cao với mùi vị và hương thơm đặc trưng, chứa đầy đủ nguồn vitamin A và vitamin C, sắt, kali, các thành phần dinh dưỡng khác cũng như các hoạt chất sinh học có lợi cho sức khỏe, được dùng như các loại trái cây thông thường hoặc được chế biến thành dịch quả cô đặc [4]. Việc nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men trái cây cũng được quan tâm, việc lên men nước cam (*Citrus sinensis* L.) sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* UFLA CA1174 với nồng độ giống là 7 log CFU/mL cho thấy, cider lên men ở 16° Bx và pH = 4,5 cho sản phẩm có hàm lượng

ethanol đạt 5,81 % chỉ sau 24 giờ lên men [5]. Quá trình lên men dịch ép quả bưởi *Citrus maxima* với nấm men *S. cerevisiae* thu được 5,2 % ethanol sau 10 ngày lên men và sản phẩm được thanh trùng ở (68-70) °C [6]. Từ những vấn đề trên, việc tối ưu hóa điều kiện lên men cider CD nhằm tận dụng được nguồn nguyên liệu, đa dạng hóa sản phẩm, tạo ra sản phẩm mới phù hợp với xu hướng của người tiêu dùng và nâng cao giá trị sử dụng của CD tím cần được quan tâm.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu

CD tím: được mua tại quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ; chọn quả đạt cùng độ chín, màu tím đặc trưng, không bị dập nát hay trầy xước, vỏ bóng loáng và không bị nhiễm sâu bệnh. Sau khi mua về, được bảo quản lạnh ở ngăn đông tủ lạnh để đảm bảo lô nguyên liệu được đồng nhất cho các thí nghiệm. Nguyên liệu được rửa sạch và để ráo, bỏ đôi lấy thịt quả, ép lượng thịt quả thu dịch quả.

Dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 (Angel Yeast Co., Ltd.) được sử dụng trong nghiên cứu.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng đến quá trình lên men cider chanh dây

Chanh dây tím được tách để lấy thịt quả, chà qua rây để thu dịch quả. Sau đó dịch quả được pha loãng với nước theo tỉ lệ 1/1, 1/2 và 1/3 (w/v) và được điều chỉnh đến 18 °Bx và pH = (4,5-5,0) bằng acid citric và Na₂CO₃. Dịch quả được thanh trùng bằng NaHSO₃ (140 mg/L) cùng với enzyme pectinase ở nồng độ 0,2 % (w/v) tiến hành gia nhiệt ở 40 °C trong 2 giờ. Nấm men đã được

hoạt hóa được bổ sung vào dịch quả với tỉ lệ 0,04 % (w/v). Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 được hoạt hóa theo nồng độ nấm men/đường/nước là (1/2/10) trước khi cho vào dịch quả. Các bình tam giác chứa 100 mL dịch quả đã chủng nấm men được đặt bằng water-lock để lên men kỵ khí ở nhiệt độ 30 °C (ở nhiệt độ phòng hoặc bằng tủ ấm) trong 5 ngày. Kết thúc quá trình lên men đánh giá các chỉ tiêu: các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, độ lệch màu ΔE , hàm lượng ethanol và đánh giá cảm quan sản phẩm.

2.2.2 Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men cider chanh dây

CD tím được xử lý như Mục 2.2.1. Dịch quả sau khi thu hồi tiến hành pha loãng với nước theo tỉ lệ được lựa chọn ở Mục 2.2.1. Sau đó, thanh trùng dịch quả bằng NaHSO₃ 140 mg/L cùng với enzyme pectinase ở nồng độ 0,2 % (w/v) tiến hành gia nhiệt ở 40 °C, ủ trong 2 giờ, dùng màng lọc để lọc lại dịch quả và tiến hành xác định mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến các hàm mục tiêu là các chỉ tiêu theo dõi gồm hàm lượng ethanol (Y_1), các giá trị màu sắc, giá trị độ sáng L^* (Y_2), giá trị a^* (Y_3) giá trị b^* (Y_4), chỉ số hóa nâu BI (Y_5) độ lệch màu ΔE (Y_6) và điểm chất lượng cảm quan (Y_7) với các biến: X_1 - độ Brix (17-19) °Bx; X_2 - pH của dịch lên men (3,0-5,0); X_3 - tỉ lệ nấm men (0,03-0,05) % (w/v); X_4 - thời gian lên men (3-5) ngày) được bố trí và mã hóa như Bảng 1 và Bảng 2. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 được hoạt hóa theo nồng độ nấm men/đường/nước là (1/10/2) trước khi cho vào dịch quả. Tiến hành lên men kỵ khí ở nhiệt độ 30 °C (ở nhiệt độ phòng hoặc bằng tủ ấm) trong 5 ngày. Kết thúc quá trình lên men đánh giá các chỉ tiêu: các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, độ lệch màu ΔE , hàm lượng ethanol và đánh giá cảm quan sản phẩm.

Bảng 1 Nhân tố và các mức độ được bố trí theo mô hình phức hợp trung tâm CCD

Ký hiệu	Nhân tố	Đơn vị	Mức độ				
			$-\alpha$	-1	0	1	$+\alpha$
X_1	°Bx	-	16	17	18	19	20
X_2	pH	-	2	3	4	5	6
X_3	Nồng độ nấm men	% w/v	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06
X_4	Thời gian lên men	Ngày	2	3	4	5	6

Bảng 2 Bố trí nghiệm thực theo mô hình phức hợp trung tâm CCD

STT	X_1	X_2	X_3	X_4	STT	X_1	X_2	X_3	X_4
1	0	0	-2	0	16	0	0	0	0

2	-1	-1	-1	-1	17	0	0	0	0
3	-1	1	-1	-1	18	0	0	0	0
4	1	-1	-1	-1	19	0	2	0	0
5	1	1	-1	-1	20	2	0	0	0
6	-1	-1	-1	1	21	0	0	0	2
7	-1	1	-1	1	22	-1	-1	1	-1
8	1	-1	-1	1	23	-1	1	1	-1
9	1	1	-1	1	24	1	-1	1	-1
10	0	0	0	-2	25	1	1	1	-1
11	0	-2	0	0	26	-1	-1	1	1
12	-2	0	0	0	27	-1	1	1	1
13	0	0	0	0	28	1	-1	1	1
14	0	0	0	0	29	1	1	1	1
15	0	0	0	0	30	0	0	2	0

Trong đó: $(-\alpha) = -2, (-1)$: giá trị cận dưới, (0) : giá trị ở tâm, (1) : giá trị cận trên, $(+\alpha) = 2$. Để xác định giá trị tối ưu cho quá trình lên men, kết quả phân tích khớp với phương trình đa thức bậc 2 bao gồm phần tuyến tính bậc 1, bậc 2 và tương tác của các yếu tố bậc 1 bằng phương pháp hồi quy đa biến.

2.3 Phương pháp phân tích

- Giá trị pH được xác định bằng máy pH Hanna (Italia)
- Độ Brix được đo bằng khúc xạ kế Atago (Japan)
- Xác định nồng độ ethanol theo phương pháp chung cất theo TCVN 8008:2009 [7].

- Giá trị (L^* , a^* , b^*) được áp dụng theo phương pháp đo màu CIELAB và được xác định bằng máy đo màu (Model WR10, China) sử dụng hệ đo màu L^* (đen-trắng), a^* (xanh lục-đỏ), b^* (xanh dương-vàng) [8].

- Chỉ số hóa nâu BI được tính theo công thức [39]:

$$BI (\%) = \frac{x-0,31}{0,172} \times 100, x = \frac{a+1,75.L}{5,645.L+a-3,012.b}$$

- Sai biệt màu sắc tổng thể ΔE [9, 10] được tính theo công thức: $\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$

- Phương pháp đánh giá cảm quan (cho điểm) theo TCVN 3215-1979 [11].

2.4 Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Kết quả được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, USA). Dữ liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion 19.1 và tối ưu hóa bằng phần mềm Design Expert 13.0 (Stat Ease Inc., USA).

3 Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1 Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng đến quá trình lên men cider CD

Hàm lượng chất khô hòa tan là một trong những nhân tố quan trọng, không chỉ tác động đến quá trình lên men mà còn ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm sau lên men. Hơn nữa, việc xác định tỉ lệ phối chế dịch quả với nước cũng rất cần thiết, vì nó ảnh hưởng đến hương vị của thành phẩm sau khi kết thúc quá trình lên men. Kết quả thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng giữa dịch quả và nước được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3 Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng dịch quả/nước (w/v) đến các chỉ tiêu đánh giá

Tỉ lệ dịch quả/nước (w/v)	Các chỉ tiêu đánh giá sau quá trình lên men						
	Ethanol (% v/v)	Cảm quan	Các giá trị màu sắc				
			L^*	a^*	b^*	BI	ΔE
1/1	$4,48 \pm 0,03^a$	$18,18 \pm 0,18^b$	$66,75 \pm 0,03^a$	$0,65 \pm 0,02^c$	$26,37 \pm 0,04^a$	$48,92 \pm 0,12^a$	$4,28 \pm 0,06^a$
1/2	$4,45 \pm 0,02^b$	$18,69 \pm 0,05^a$	$66,68 \pm 0,02^a$	$0,70 \pm 0,01^b$	$26,24 \pm 0,03^a$	$48,73 \pm 0,06^a$	$4,21 \pm 0,03^a$
1/3	$4,19 \pm 0,02^c$	$17,20 \pm 0,22^c$	$64,95 \pm 0,07^b$	$0,76 \pm 0,03^a$	$25,23 \pm 0,12^b$	$48,06 \pm 0,18^b$	$3,92 \pm 0,05^b$

Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. Các trung bình nghiệm thức có cùng chữ cái đi kèm trong một cột thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, tỉ lệ pha loãng ảnh hưởng đến hàm lượng ethanol sinh ra trong quá trình lên men khác biệt ý nghĩa ($p < 0,05$). Trong đó, hàm lượng ethanol sinh ra giảm từ tỉ lệ 1/1 đến 1/3 (w/v) với hàm lượng ethanol đạt cao nhất ở tỉ lệ pha loãng 1/1 (4,48 % v/v), không khác biệt ý nghĩa thống kê so với tỉ lệ 1/2 (4,45 % v/v) và đồng thời ở tỉ lệ 1/1 và 1/2 (w/v) khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với tỉ lệ 1/3 (4,19 % v/v). Sự khác chênh lệch về hàm lượng ethanol sinh ra phần lớn nguyên nhân là do ở tỉ lệ 1/1 và 1/2 (w/v) thành phần dinh dưỡng như đạm, các chất khoáng, vitamin, các chất kích thích sinh trưởng cho tế bào nấm men trong dịch lên men giảm dần nên khi tỉ lệ pha loãng càng cao nấm men hoạt động yếu và ngược lại. Nấm men cần có nguồn dinh dưỡng để phát triển, trong đó đường đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi chất để duy trì sự sinh trưởng và phát triển của nấm men. Tuy nhiên, ở tỉ lệ pha loãng 1/3 (w/v), hàm lượng nước bổ sung gấp 3 lần dẫn đến thành phần các hợp chất dinh dưỡng có trong dịch quả bị loãng đi làm cho hàm lượng ethanol sinh ra bị giảm đáng kể, tạo điều kiện bất lợi cho sự phát triển của nấm men. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu [9] khi nghiên cứu lên men thanh long ruột đỏ ở tỉ lệ pha loãng 1/2 (w/v) đã thu được hàm lượng ethanol cao nhất. Bên cạnh đó, sản phẩm lên men tốt ở tỉ lệ dịch xoài và nước là 1/1,5 (w/v) [10], tỉ lệ cũng tương đối gần với nghiên cứu của bài báo. Có thể thấy rằng, tùy vào đặc tính của từng loại nguyên liệu mà lựa chọn tỉ lệ pha loãng cho phù hợp giúp quá trình lên men tốt, tạo ra sản phẩm đáp ứng được các tiêu chí chất lượng đặc trưng của sản phẩm.

Bảng 3 cũng cho thấy, tỉ lệ dịch quả/nước ảnh hưởng đến các giá trị màu sắc của sản phẩm cider CD. Ở các tỉ lệ dịch quả/nước từ 1/1 đến 1/3 (w/v) các giá trị màu sắc L^* , a^* , b^* của sản phẩm tác động đến chất lượng chung của sản phẩm. Kết quả cho thấy giá trị L^* và b^* có xu hướng giảm đáng kể khi tăng các tỉ lệ pha loãng ($p < 0,05$) từ 1/1 đến 1/3 với các giá trị đạt cao nhất ở tỉ lệ 1/1 (w/v) với giá trị L^* , b^* lần lượt là 66,75 và 26,37. Tuy nhiên, giá trị a^* lại có xu hướng tăng khi tăng các tỉ lệ pha loãng. Nguyên nhân là do khi tăng các tỉ lệ từ 1/1 đến 1/3 (w/v) dịch quả chanh dây bị loãng đi ở các mức độ pha loãng khác nhau dẫn đến các giá

trị như L^* , b^* giảm, màu vàng sáng kém đi đáng kể từ đó dẫn đến giá trị a^* tăng, kết quả cho thấy giá L^* , b^* tỉ lệ nghịch so với giá trị a^* khi thay đổi các tỉ lệ pha loãng. Màu vàng sáng của nước ép dịch quả thường bị ảnh hưởng bởi sự tồn tại của các sắc tố tự nhiên như carotenoid, và đặc tính chất lượng này bị ảnh hưởng bởi giai đoạn trưởng thành của quả, phương pháp chế biến như tỉ lệ pha loãng dịch quả, xử lý nhiệt độ, thời gian tác động, điều kiện bảo quản và phản ứng hóa nâu do enzyme hoặc không do enzyme hoạt động [11].

Ở các tỉ lệ pha loãng khác nhau từ 1/1 đến 1/3 (w/v), cũng có sự thay đổi về chỉ số hóa nâu BI cũng như độ lệch màu ΔE ở các mẫu nghiên cứu trong quá trình lên men sản phẩm cider chanh dây và có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, các giá trị BI và ΔE ở các tỉ lệ pha loãng từ 1/1 đến 1/3 (w/v) có xu hướng giảm và tỉ lệ thuận với nhau với kết quả cao nhất ở tỉ lệ pha loãng 1/1 (w/v) đạt lần lượt là (BI) 48,92 và (ΔE) 4,28 đồng thời khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với tỉ lệ pha loãng 1/2 (dịch quả/nước) và giảm đáng kể ở tỉ lệ 1/3 (dịch quả/nước) với các giá trị đạt (BI) 48,06 và (ΔE) 3,92. Kết quả này phần nào cho thấy ảnh hưởng đáng kể của tỉ lệ pha loãng đến chất lượng sản phẩm cider chanh dây. Trong quá trình ép dịch quả, các hợp chất o-diphenolic được chuyển đổi thành quinon trong các tế bào bị tổn thương và điều này dẫn đến màu của nước ép chuyển sang màu nâu. Việc ức chế phản ứng oxy hóa này làm quá trình nước ép chuyển sang màu nâu dẫn đến kém về mặt cảm quan sản phẩm, đã có nhiều nghiên cứu về việc làm giảm sự thay đổi màu sắc trong nước ép táo lên men đã được báo cáo [12]. Đối với tổng giá trị sai biệt màu sắc (ΔE) ảnh hưởng đến sắc độ, sắc thái, độ sáng và cho thấy rõ xu hướng tăng giá trị sai biệt màu sắc (ΔE) trong nước ép khi tăng cường xử lý enzyme pectinase. Tuy nhiên giá trị (ΔE) giảm tương đối đã xác nhận khi tăng các tỉ lệ pha loãng trong dịch nước ép. Mật độ màu và màu polyme là các thông số quan trọng liên quan đến màu sắc, thường được áp dụng cho các sản phẩm có chứa anthocyanin, carotenoid [13].

Sau thời gian lên men ở các tỉ lệ pha loãng khác nhau, các mẫu được hội đồng đánh giá chất lượng, kết quả được thể hiện qua Bảng 3 với các điểm cảm quan đạt

loại tốt ở tỉ lệ 1/2 (w/v) và loại khá tốt ở tỉ lệ 1/1 và 1/3 (w/v). Điều này là do khi thêm nước vào ở một mức độ phù hợp, nồng độ các chất dinh dưỡng còn lại vẫn tương đối cao, khả năng trao đổi chất ở nấm men diễn ra thuận lợi. Ở các tỉ lệ 1/1 và 1/2 (w/v) dịch quả/nước, nấm men vẫn phát triển tương đối tốt, điểm chất lượng cảm quan đạt được tốt hơn (18,69 ở tỉ lệ 1/2 (w/v) dịch quả/nước) là do màu sắc, mùi vị phù hợp với tiêu chí chất lượng của sản phẩm. Nấm men vẫn phát triển tương đối tốt ở các tỉ lệ pha loãng với sản phẩm cider dâu, điểm chất lượng cảm quan đạt được tốt ở tỉ lệ 1/2 (w/v) [14]. Đồng thời, các kỹ thuật dựa trên các phương pháp xử lý nguyên liệu rất hiệu quả vì nước ép dịch quả có chất lượng dinh dưỡng và cảm quan rất tốt khi pha loãng với thông số phù hợp so với dịch quả ban đầu, đặc biệt là về việc giữ lại màu sắc tự nhiên tươi sáng và hương thơm dễ chịu, mà hầu như những yếu tố đó điều bị giảm đi đáng kể trong quá trình pha loãng dịch quả. Nhìn chung, khi bổ sung nước theo tỉ lệ 1/2 (w/v) (dịch quả/nước) là phù hợp nhất cho quá trình lên men cider chanh dây.

3.2 Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng trong quá trình lên men cider CD

Tối ưu hóa quá trình lên men cider CD bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology) theo bốn yếu tố ảnh hưởng được lựa chọn cho quá trình là °Bx, pH, tỉ lệ nấm men và thời gian lên men. Tiến hành bố trí mô hình tối ưu hóa với 30 nghiệm thức được thiết kế và thực hiện thông qua thiết kế mô hình CCD nhằm tối ưu hóa các điều kiện ảnh hưởng đến khả năng lên men, chất lượng của nguyên liệu đồng thời đánh giá sự thay đổi màu sắc của sản phẩm. Quá trình lên men cider chanh dây với các kết quả thu nhận là các yếu tố của sản phẩm bị ảnh hưởng bởi các nhân tố khác nhau, tương ứng với mỗi nghiệm thức được mã hóa và các đáp ứng bao gồm: ethanol (Y_1), giá trị độ sáng L^* (Y_2), giá trị a^* (Y_3), giá trị b^* (Y_4), chỉ số hóa nâu BI (Y_5), sai biệt màu sắc tổng thể ΔE (Y_6) và điểm chất lượng cảm quan (Y_7) với các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men là độ Brix (X_1), pH (X_2), tỉ lệ nấm men (X_3) và thời gian lên men (X_4). Phân tích ANOVA được dùng để đánh giá mức độ phù hợp của mô hình. Từ mô hình thu nhận, tiến hành tối ưu hóa các thông số thực hiện với độ dao động

của từng biến trong khoảng khảo sát. Từ đó, chọn lựa các phương án ở mức độ tối ưu với hàm lượng ethanol (% v/v), các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, sai biệt màu sắc tổng thể ΔE và đánh giá cảm quan thể hiện các mức độ ưa thích của người tiêu dùng sản phẩm.

Dữ liệu thí nghiệm được sử dụng để kiểm tra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê và tính toán hệ số của phương trình hồi quy tuyến tính và đa thức bậc 2. Về cơ bản, p-value càng nhỏ thể hiện mức độ ý nghĩa càng cao về ảnh hưởng của các biến tự do lên các biến phụ thuộc. Thông qua loại bỏ các tương tác có mức độ ý nghĩa thấp ($p > 0,05$), mức độ chính xác của mô hình hồi quy có thể được cải thiện đáng kể. Trên thực tế, kết quả phân tích ANOVA cho thấy phương trình hồi quy tuyến tính đa thức bậc 2 đạt được mức độ tương quan tương đối cao với giá trị thu nhận có dạng:

$$Y_n = a_0 + \sum_{i=1}^k a_i X_i + \sum_{i=1}^k a_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j=1}^k a_{ij} X_i X_j$$

Kết quả (Bảng 4) thể hiện mô hình hồi quy, hệ số R^2 và $R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$ ứng với từng biến phụ thuộc của các nhân tố phụ thuộc.

Bảng 4 Hệ số R^2 , $R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$ và giá trị P ứng với từng biến phụ thuộc

Biến phụ thuộc	Hệ số R^2	$R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$	Giá trị P
Ethanol (% v/v)	0,9939	0,9882	*
L^*	0,9738	0,9494	*
a^*	0,8323	0,6759	*
b^*	0,9949	0,9949	*
Chỉ số hóa nâu BI	0,9719	0,9458	*
Sai biệt màu sắc tổng thể ΔE	0,9849	0,9708	*
Cảm quan	0,9572	0,9172	*

Ghi chú: *khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

Theo kết quả thống kê ANOVA (Bảng 4) cho thấy các giá trị P của hệ số, tương tác các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men của cider chanh dây với khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$), chứng tỏ các nhân tố này đều ảnh hưởng đến hàm lượng ethanol, các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, sai biệt màu sắc tổng thể của sản phẩm ΔE , đánh giá cảm quan sản phẩm. Phương trình tương quan tốt khi hệ số xác định tương quan R^2 lớn hơn 0,80 thể hiện mức độ tương thích cao của các phương trình [15]. Phương trình

tương quan được xây dựng từ thí nghiệm đối với hàm lượng ethanol, các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, sai biệt màu sắc tổng thể ΔE , giá trị cảm quan đã thỏa điều kiện với thông số R^2 khá cao lần lượt là 0,9939; 0,9738; 0,8323; 0,9949; 0,9719; 0,9849; và 0,9572 và giá trị $R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$ đạt 0,9882; 0,9494; 0,6759; 0,9949; 0,9458; 0,9708; và 0,9172, tương ứng. Mặt khác, giá trị hệ số xác định tương quan R^2 của phương trình còn thể hiện sự tương thích cao giữa các giá trị thực nghiệm và các giá trị dự đoán. Điều này cũng

$$(2) Y_1 = -78,16 + 7,38X_1 + 1,57X_2 + 468X_3 + 0,049X_4 + 0,006X_1X_2 - 9,88X_1X_3 + 0,086X_1X_4 + 0,5X_2X_3 + 0,01X_2X_4 - 9,5X_3X_4 - 0,198X_1^2 - 0,188X_2^2 - 2581,3X_3^2 - 0,132X_4^2$$

$$(3) Y_2 = -233,2 + 28,8X_1 + 3,8X_2 + 1049X_3 + 1,18X_4 - 0,059X_1X_2 - 21,44X_1X_3 + 0,34X_1X_4 + 18,06X_2X_3 + 0,24X_2X_4 - 5,56X_3X_4 - 0,8X_1^2 - 0,46X_2^2 - 7330X_3^2 - 0,89X_4^2$$

$$(4) Y_3 = -10,4 - 1,02X_1 + 0,056X_2 - 11,83X_3 - 0,051X_4 - 0,003X_1X_2 + 0,063X_1X_3 - 0,009X_1X_4 - 1,69X_2X_3 - 0,01X_2X_4 - 0,81X_3X_4 + 0,02X_1^2 + 0,01X_2^2 - 219,8X_3^2 - 0,033X_4^2$$

$$(5) Y_4 = -240,9 + 28,7X_1 + 2,76X_2 - 125,4X_3 + 0,22X_4 + 0,008X_1X_2 + 15,56X_1X_3 + 0,19X_1X_4 + 23,8X_2X_3 + 0,05X_2X_4 + 42,06X_3X_4 - 0,83X_1^2 - 0,46X_2^2 - 3819X_3^2 - 0,63X_4^2$$

$$(6) Y_5 = -290,1 + 39,5X_1 + 3,1X_2 - 1281,6X_3 - 0,73X_4 + 0,07X_1X_2 + 56,3X_1X_3 + 0,13X_1X_4 + 35,69X_2X_3 - 0,14X_2X_4 + 103,19X_3X_4 - 1,18X_1^2 - 0,63X_2^2 - 1786,5X_3^2 - 0,6X_4^2$$

$$(7) Y_6 = 288,9 - 27,71X_1 - 6,2X_2 - 509,4X_3 - 3,16X_4 + 0,12X_1X_2 + 4,44X_1X_3 - 0,14X_1X_4 - 3,44X_2X_3 + 0,11X_2X_4 - 13,06X_3X_4 + 0,76X_1^2 + 0,42X_2^2 + 4590,6X_3^2 + 0,65X_4^2$$

$$(8) Y_7 = -42,5 + 3,83X_1 + 5,14X_2 + 759,2X_3 - 0,28X_4 - 0,13X_1X_2 - 15,6X_1X_3 + 0,12X_1X_4 - 15,6X_2X_3 - 0,08X_2X_4 - 18,13X_3X_4 - 0,09X_1^2 - 0,17X_2^2 - 3406,3X_3^2 - 0,078X_4^2$$

Sự phân bố giữa giá trị giá trị như hàm lượng ethanol, các giá trị màu sắc và điểm cảm quan thu nhận từ thực nghiệm và từ phương trình dự đoán. Kết quả cho thấy sự phân bố của các chỉ tiêu thực tế và lý thuyết tương đối đồng đều dựa trên các phương trình toán học được trình có thể dự đoán chính xác hàm lượng ethanol, các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*), chỉ số hóa nâu BI, sai biệt màu sắc tổng thể ΔE , giá trị cảm quan trong khoảng giá trị được khảo sát.

Kết quả được trình bày ở (Bảng 5). Giá trị F-giá trị, p-giá trị và sự không tương thích của phương trình tương

chứng tỏ rằng, mô hình phù hợp với các đại diện đầy đủ của các mối quan hệ giữa các biến được lựa chọn.

Tương quan giữa hàm lượng ethanol (Y_1), giá trị độ sáng L^* (Y_2), giá trị a^* (Y_3), giá trị b^* (Y_4), chỉ số hóa nâu BI (Y_5), sai biệt màu sắc tổng thể ΔE (Y_6) và điểm chất lượng cảm quan (Y_7) với các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men là độ Brix (X_1), pH (X_2), tỉ lệ nấm men (X_3) và thời gian lên men (X_4) được diễn tả theo phương trình 2, 3, 4, 5, 6, 7 và 8 thể hiện các phương trình hồi quy bậc 2 dự đoán mối quan hệ giữa các yếu tố khảo sát.

ứng là 174,69; 0,0001 ($p < 0,01$) và 0,1861 ($p > 0,05$), cho thấy phương trình bậc 2 có thể được sử dụng để phỏng đoán 95% ($R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$) sự thay đổi của hàm lượng ethanol ở các điều kiện xử lý khác nhau. Trong đó cả giá trị $^{\circ}\text{Bx}$ (Y_1), pH (Y_2), nồng độ nấm men (Y_3) và thời gian lên men (Y_4) đều là những thông số quan trọng của phương trình ($p < 0,01$), ảnh hưởng rất đáng kể đến hàm lượng hàm lượng ethanol (% v/v) trong quá trình lên men cider chanh dây. Sự tương tác giữa nhân tố có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng ethanol (% v/v) ($p < 0,05$).

Bảng 5 Kết quả phân tích ANOVA đến sự hình thành ethanol theo mô hình CCD

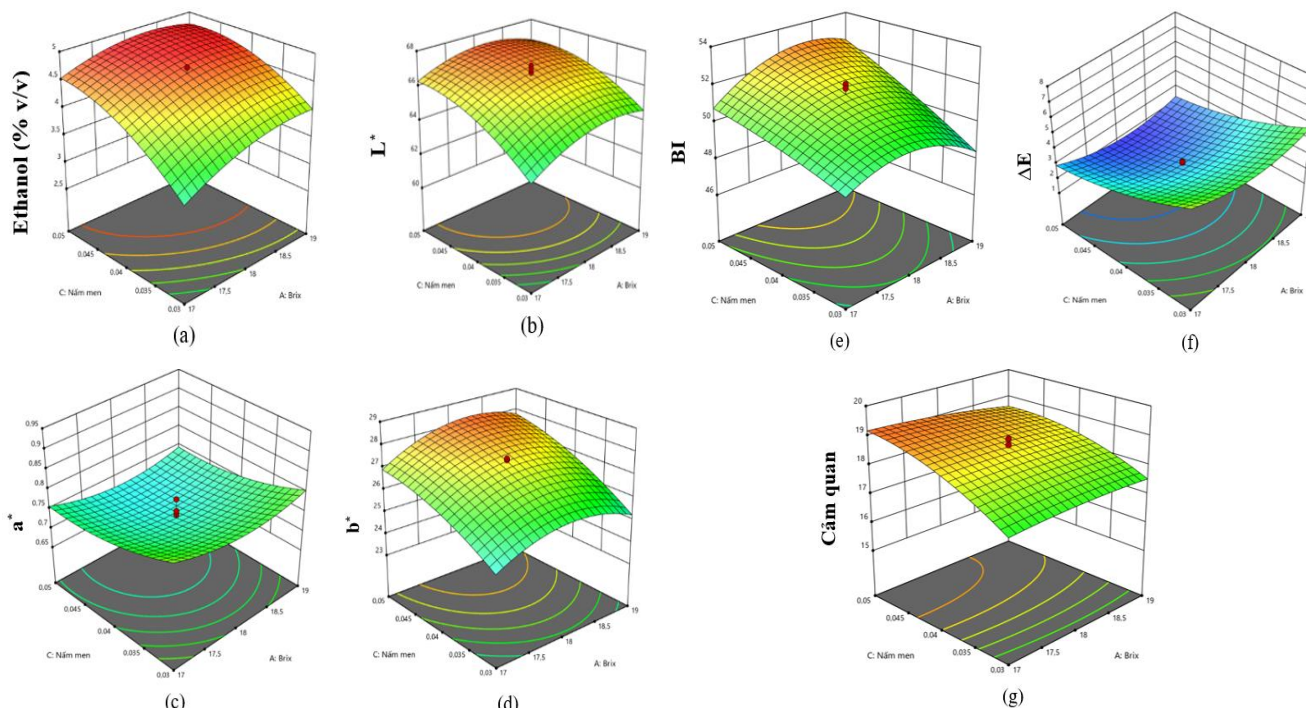
Nhân tố	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình phương	Giá trị F	Giá trị P
	12,53	14	0,8948	174,69	**

X ₁ -Brix	1,16	1	1,16	226,78	**
X ₂ -pH	1,30	1	1,30	253,28	**
X ₃ -Nấm men	5,47	1	5,47	1068,32	**
X ₄ -Ngày	1,03	1	1,03	200,12	**
X ₁ X ₂	0,0006	1	0,0006	0,1220	0,7317
X ₁ X ₃	0,1560	1	0,1560	30,46	**
X ₁ X ₄	0,1190	1	0,1190	23,24	**
X ₂ X ₃	0,0004	1	0,0004	0,0781	0,7837
X ₂ X ₄	0,0016	1	0,0016	0,3124	0,5845
X ₃ X ₄	0,1444	1	0,1444	28,19	**
X ₁ ²	1,08	1	1,08	210,20	**
X ₂ ²	0,9707	1	0,9707	189,51	**
X ₃ ²	1,83	1	1,83	356,78	**
X ₄ ²	0,4770	1	0,4770	93,13	**
Phần còn lại	0,0768	15	0,0051		
Sự phù hợp	0,0631	10	0,0063	2,29	0,1861
Sai số chuẩn	0,0138	5	0,0028		
Sai số	0,0716		R²		0,9939
Trung bình	4,01		Hiệu chỉnh R²		0,9882
Hệ số biến thiên (%)	1,78		Dự đoán R²		0,9696
			Độ chính xác		44,9209

Ghi chú: $R^2 = 0,99$, $R^2_{\text{hiệu chỉnh}} = 0,98$, hệ số biến thiên = 1,78 % và độ chính xác = 44,9209 *Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), **Khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

Dựa vào kết quả phân tích ANOVA ở (Bảng 5), có thể thấy rằng mô hình thử nghiệm có ý nghĩa với $p < 0,01$. Trong đó, các nhân tố khảo sát có tác động ý nghĩa đến quá trình hình thành ethanol của cider chanh dây với ($p < 0,01$) và hệ số biến thiên là 1,78 %. Bên cạnh đó, giá trị $R^2 = 0,9939$ và $R^2_{\text{hiệu chỉnh}} = 0,9882$ cũng thể hiện mô hình thống kê có độ tin cậy cao. Hình 1a cho thấy sự tác động giữa tỉ lệ nấm men và độ Brix đến sự hình thành ethanol. Mỗi điểm trên bề mặt đáp ứng đại diện cho lượng ethanol tạo thành tương ứng với các yếu tố ảnh hưởng được khảo sát đến chiều hướng tạo ra ethanol ở mức cao nhất hay thấp nhất. Đối với sản phẩm cider nấm men đóng vai trò thiết yếu trong quá

trình sản xuất tất cả các loại đồ uống có cồn và việc lựa chọn chủng nấm men thích hợp là rất quan trọng để kiểm soát sản lượng cồn và bảo toàn chất lượng cảm quan của đồ uống [16]. Tuy nhiên, hoạt động của nấm men trong quá trình lên men không chỉ giới hạn ở việc chuyển hóa đường thành rượu. Quá trình trao đổi chất của nấm men tạo ra các chất chuyển hóa và sản phẩm phụ khác nhau có thể có tác động thiết yếu đến chất lượng cảm quan của sản phẩm lên men. Quá trình làm tăng sinh khối được hình thành (trên một đơn vị đường phân hủy), đồng thời làm giảm sản xuất ethanol và tiêu thụ đường. Đối với nồng độ glucose cao, *Saccharomyces cerevisiae* chỉ chuyển hóa đường bằng cách lên men [16].



Hình 1 Bề mặt đáp ứng đối với các yếu tố ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sau quá trình lên men cider chanh dây

Ghi chú: (a) hàm lượng ethanol, (b) giá trị độ sáng L^* , (c) giá trị a^* , (d) giá trị b^* , (e) chỉ số hóa nâu BI, (f) sai biệt màu sắc tổng thể ΔE , (g) giá trị cảm quan

Hình 1a mô tả sự thay đổi hàm lượng ethanol (% v/v) khi có sự tác động của nhân tố độ Brix, pH, tỉ lệ nấm men và thời gian trong quá trình lên men, sự tương tác giữa các nhân tố cũng được thể hiện rõ trong (Hình 1a và Bảng 4). Phân tích Hình 1a và Bảng 4, có thể kết luận rằng các nhân tố trong quá trình lên men cider chanh dây đều có tác động mạnh mẽ đến hàm lượng ethanol trong dịch quả lên men đặc biệt là tỉ lệ nấm men, giá trị pH và độ Brix hiệu chỉnh (tỉ lệ đường bổ sung vào dịch quả). Trong quá trình lên men, một số loại như acid citric được chuyển hóa thành acid acetic, trong khi acid shikimic và quinic được chuyển hóa thành các phenol đơn lẻ, như catechol, ethylcatechol và các hợp chất khác đồng thời các acid hữu cơ có thể ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất của nấm men. Hoạt động của nấm men và các biến đổi hóa học cũng bị ảnh hưởng bởi độ acid của nước ép trong quá trình lên men. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* phần lớn được sử dụng để sản xuất đồ uống có cồn, do được kiểm soát cũng như để giải phóng các tiền chất tạo hương thơm của của sản phẩm [17]. Nồng độ glucose và fructose có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm men, tức là nồng độ đường cao sẽ làm giảm tốc độ phát triển của

một số chủng nấm men [3]. Hơn nữa, nồng độ đường cao làm tăng tác động đến nấm men đối với nitơ có thể đồng hóa, điều này cũng có thể ức chế quá trình lên men. Một số biến số, chẳng hạn như nhiệt độ và độ pH, có thể ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của nấm men và môi trường tăng trưởng cũng như khả năng thích nghi của các chủng nấm men [3]. Nhiều loại đồ uống có hàm lượng đường cao, độ pH thấp và được phân biệt với các vi khuẩn acid acetic khác ở khả năng oxy hóa glucose thành acid gluconic.

Kết quả Hình 1b, Hình 1c, Hình và 1d cho thấy, sự thay đổi các giá trị màu sắc (L^* , a^* , b^*) một cách rõ ràng khi có sự thay đổi của nhân tố độ Brix, pH, tỉ lệ nấm men và thời gian trong quá trình lên men, sự tương tác giữa các nhân tố cũng được thể hiện. Kết quả Bảng 4 cho thấy các nhân tố tác động mạnh mẽ đến sự thay đổi các giá trị màu sắc của sản phẩm có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,01$). Sự giảm giá trị độ sáng (L^*) là do tác động của tế bào vi khuẩn, trong khi sự tăng giá trị độ đỏ (a^*) giá trị độ vàng (b^*) tác động tích cực nước ép dâu tằm, cũng như tác động lên quá trình lên men đối với cả màu đỏ và màu vàng [28]. Giá trị L^* của nước vải giảm nhẹ khi xử lý bằng nhiệt, có thể là do sự kết

tụ của protein và chất xơ trong nước vài sau khi xử lý nhiệt, trong khi giá trị a^* tăng chậm đã được quan sát thấy trong nước ép vài thiếu lên men, có thể là do phản ứng caramen hóa trong quá trình thanh trùng bằng nhiệt [29, 30]. Điều này có thể là do các phản ứng không phải enzyme, bao gồm phản ứng maillard diễn ra giữa các nhóm alpha-amino, đường khử và sự phân hủy acid ascorbic [31]. Quá trình oxy hóa các thành phần phenolic và sau đó dẫn đến sự hình thành màu vàng nâu, có thể là nguyên nhân chính gây ra sự gia tăng giá trị b^* trong nước ép dâu tây chưa lên men tương đồng với kết quả nghiên cứu [32]. Hơn nữa, carotenoid và các dẫn xuất của chúng, chẳng hạn như violaxanthin, β -carotene, lutein,... cũng có thể liên quan đến giá trị không gian màu b^* [33], ngụ ý rằng tính chất màu vàng của nước ép lên men sẽ được tăng cường vì các sắc tố này bị giải phóng nhiều hơn dưới tác động của các loại yếu tố vật lý hoặc hóa học [34]. Theo cách này, màu vàng (giá trị b^*) của nước ép lên men sẽ là kết quả của sự kết hợp của nhiều yếu tố tác động đến sản phẩm.

Hình 1e, Hình 1f và Bảng 4 thể hiện sự tác động của các nhân tố độ Brix, pH, tỉ lệ nấm men và thời gian đến chỉ số hóa nâu BI và sai biệt màu sắc tổng thể ΔE khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Chỉ số hóa nâu BI có tác động tích cực đến sự thay đổi của sản phẩm cider CD ở các yếu tố ảnh hưởng đến sự thay đổi màu sắc, chỉ số hóa nâu BI trong quá trình lên men là các chất chống oxy hóa và sắc tố có trong nguyên liệu. Các điều kiện có thể ảnh hưởng đến màu sắc, chỉ số hóa nâu trong quá trình lên men là nhiệt độ, ánh sáng, điều kiện bảo quản, oxy và những yếu tố khác tác động. Dưới ảnh hưởng của các yếu tố này, sự thay đổi màu sắc, trong phạm vi từ vàng sang vàng nâu, có thể tạo thành các hợp chất màu vàng, cuối cùng dẫn đến polyme màu nâu, có thể là màu không mong muốn theo quan điểm

của người tiêu dùng [13]. Đối với tổng thể sai biệt màu sắc ΔE , có thể nhận định rằng việc xử lý nhiệt cùng với thời gian lên men có tác động rõ rệt đến màu sắc của nước ép do sự phân hủy các sắc tố màu [35]. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng quá trình oxy hóa phenol và trùng hợp quinon hoặc bán quinon có thể tạo ra các nhóm màu vàng-nâu làm tăng tình trạng suy giảm màu của nước ép lên men [36].

Có thể thấy rằng, phần quan trọng để đánh giá mức độ ưa thích, chấp nhận của người tiêu dùng là chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm, kết quả được thể hiện ở (Hình 1g). Do đó, nền tảng của nhà sản xuất và nghiên cứu là có thể hỗ trợ phát triển các loại đồ uống lên men có lợi cho sức khỏe người tiêu dùng, bao gồm bia và rượu táo ít cồn và không cồn [37]. Các hợp chất phenolic có tác động quan trọng đến các đặc tính cảm quan của rượu táo như màu sắc, vị đắng và sự cân bằng vị chất, mang lại cảm giác ngon miệng cho rượu táo [38]. Do đó, tiêu chí để lựa chọn chủng nấm men và tỉ lệ nấm men sử dụng trong đồ uống lên men bao gồm: khả năng chi phối môi trường, cải thiện các đặc tính cảm quan tốt và khả năng không tạo ra các hợp chất không mong muốn như amin sinh học hoặc mùi lạ là tiêu chí quan trọng để cải thiện đặc tính sản phẩm [39].

3.3. Thử nghiệm xác nhận một số điều kiện tối ưu
Tối ưu hóa quá trình lên men cider CD bằng phương pháp bề mặt đáp ứng theo bốn yếu tố ảnh hưởng được lựa chọn cho quá trình là độ Brix, pH, nồng độ nấm men và thời gian lên men. Sử dụng phần mềm Design Expert 13.0 để tìm ra điều kiện tối ưu cho quá trình lên men sản phẩm cider CD, hàm lượng từng đáp ứng phụ thuộc, hiệu quả lên men và hiệu quả duy trì chất lượng trong quá trình lên men ở điều kiện tối ưu và điều kiện thực nghiệm được trình bày ở (Bảng 6).

Bảng 6 Kết quả các chỉ tiêu theo dõi thu được ở các giá trị tối ưu và giá trị thực nghiệm

Giá trị	Thử nghiệm	Nhân tố				Các chỉ tiêu đánh giá sau quá trình lên men						
		Brix	pH	Nấm men (% w/v)	Thời gian (ngày)	Ethanol (% v/v)	L*	a*	b*	BI	ΔE	Cảm quan
Tối ưu	1	18,77	4,30	0,039	3,43	4,49	65,71	0,78	26,54	50,43	3,55	18,34
	2	18,30	4,49	0,041	3,40	4,59	66,20	0,76	27,00	51,03	3,12	18,68
	3	18,31	4,42	0,040	3,41	4,48	65,91	0,76	26,79	50,81	3,38	18,50
	4	18,53	4,47	0,043	3,64	4,76	66,76	0,74	27,45	51,55	2,63	18,74
	5	18,45	4,65	0,038	3,36	4,71	66,94	0,72	27,27	50,87	2,81	18,68

Thực nghiệm	1	18,77	4,30	0,039	3,43	4,52 ^d	65,73 ^d	0,77 ^b	26,65 ^e	50,34 ^e	3,57 ^a	18,46 ^e
	2	18,30	4,49	0,041	3,40	4,55 ^c	66,18 ^b	0,77 ^b	27,12 ^c	50,97 ^b	3,23 ^c	18,62 ^c
	3	18,31	4,42	0,040	3,41	4,47 ^e	65,95 ^c	0,78 ^a	26,82 ^d	50,76 ^c	3,42 ^b	18,48 ^d
	4	18,53	4,47	0,043	3,64	4,77 ^a	55,78 ^e	0,75 ^c	27,47 ^a	51,34 ^a	2,68 ^e	18,67 ^b
	5	18,45	4,65	0,038	3,36	4,72 ^b	66,96 ^a	0,73 ^d	27,34 ^b	50,46 ^d	2,87 ^d	18,74 ^a

Ghi chú: giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các trung bình nghiệm thức có cùng chữ cái đi kèm trong một cột thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Từ kết quả phân tích số liệu từ mô hình CCD, có 30 nghiệm thức với các thông số tối ưu được đề xuất bởi phần mềm Design-Expert 13.0. Năm nghiệm thức có hàm lượng ethanol, các giá trị màu sắc và chất lượng cảm quan tốt theo lý thuyết phù hợp nhất trong 30 nghiệm thức dự đoán từ mô hình được chọn để xác nhận kết quả tối ưu. Kết quả cho thấy các hàm mục tiêu ở các giá trị thực nghiệm sinh ra tương đồng với kết quả phần mềm dự đoán, đồng thời sự chênh lệch kết quả của các chỉ tiêu kiểm chứng giữa thực nghiệm và tối ưu là không đáng kể và nằm trong khoảng 0,03 % đến 2,14 % được tính toán thông qua Bảng 6. Từ kết quả nghiên cứu có thể nhận thấy rằng các nghiệm thức được đề xuất có độ tin cậy tương đối cao và được ứng dụng để thực hiện cho quá trình lên men cider chanh dây. Các thông số tốt nhất được lựa chọn lần lượt là độ Brix là 18,45; pH = 4,65; nồng độ nấm men 0,038% (w/v) và

thời gian 3,36 ngày lên men do có khả năng lên men ổn định, các giá trị màu sắc tốt và cảm quan được người tiêu dùng đánh giá cao phù hợp với sản phẩm cider CD.

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã xác định được tỉ lệ pha loãng dịch quả/nước là 1/2 (w/v) thích hợp cho quá trình lên men của cider CD. Điều kiện tối ưu cho quá trình lên men cider chanh dây với độ Brix của dịch lên men là 18,45; pH là 4,65; tỉ lệ nấm men là 0,038 (% w/v); thời gian là 3,36 (ngày) là tốt nhất. Điều kiện lên men tối ưu được khảo sát thực nghiệm cho thấy cider chanh dây có hàm lượng ethanol đạt 4,72 (% v/v), đồng thời mang lại màu sắc đặc trưng, giá trị màu sắc tốt, với giá trị độ sáng (L^* , a^* , b^*) chỉ số hóa nâu BI và độ lệch màu ΔE đạt được lần lượt là 66,96; 0,73; 27,34; 50,46 và 2,87. Sản phẩm cider chanh dây được hội đồng đánh giá cảm quan với 18,74 điểm.

Tài liệu tham khảo

1. Lea, A (2015). *The history of cider*, In: Andrew Lea: Craft Cider Making, 3rd Ed. Crowood Press: 9-14.
2. Phan Thị Việt Hà, Lê Văn Thuận, Nguyễn Thị Hồng Tình. (2022). Nghiên cứu đề xuất quy trình sản xuất bột chanh dây (*Passiflora edulis*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Duy Tân* 1(50), 71-79.
3. Cung Thị Tố Quỳnh, Nghiêm Xuân Sơn, Bùi Quang Nhật. (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).
4. Santos, C. C. A. D. A., Duarte, W. F., Carreiro, S. C., & Schwan, R. F. (2013). Inoculated fermentation of orange juice (*Citrus sinensis* L.) for production of a citric fruit spirit. *Journal of the Institute of Brewing* 119(4), 280-287. DOI:10.1002/jib.89
5. Prakash, A. (2019). Evaluation of physicochemical and sensory properties of wine from Citrus maxima fruit. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology* 6, 24-31. DOI: 10.20546/ijcrbp.2019.604.004



6. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8008:2009 về rượu chưng cất – xác định độ cồn.
7. Cao, X., Bi, X., Huang, W., Wu, J., Hu, X., & Liao, X. (2012). Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 16, 181-190.
8. Saidatul, S. W. K. W., Noriham, A., Zainal, S., Khairusy, S. Z., and Nurain, A. (2013). Impact of Non-thermal processing on antioxidant activity, phenolic content, ascorbic acid content and color of winter melon puree. *International Food Research Journal* 20(2), 633-638. DOI: 10.1016/j.ifset.2012.05.008
9. Hà Thanh Toàn, Lưu Minh Châu, Nguyễn Ngọc My, Trần Thị Yến Nhi, Đào Tấn Phát, Nguyễn Ngọc Thanh và Huỳnh Xuân Phong. (2023). Tối ưu hóa điều kiện lên men cider thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*) sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ* 59 (2), 94-103.
10. Trần Xuân Hiên, Đào Văn Thanh, Nguyễn Tấn Hùng (2020). Nghiên cứu tạo loại nước uống lên men lactic từ xoài ba màu. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm* 16 (3+4), 141-150.
11. Olivares-Tenorio, M.-L., Dekker, M., Verkerk, R., & van Boekel, M. A. J. S. (2016). Health-promoting compounds in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.): Review from a supply chain perspective. *Trends in Food Science & Technology* 57, 83-92. DOI:10.1016/j.tifs.2016.09.009.
12. Sudha, G., Priya, M. S., Shree, R. I., & Vadivukkarasi, S. (2011). *In vitro* free radical scavenging activity of raw pepino fruit (*Solanum muricatum* aiton). *International Journal of Current Pharmaceutical Research* 3(2), 137-140.
13. Khandare, V., Walia, S., Singh, M., & Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing* 89(4), 482-486. DOI: 10.1016/j.fbp.2010.07.007
14. Bùi Văn Tú (2019). Tối ưu hóa quá trình lên men nước giải khát cider dâu bằng phương pháp bề mặt đáp ứng bốn yếu tố. *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học Trường Đại học Sao Đỏ* 2(65), 77-85.
15. Guan, X. and Yao, H. (2008). Optimization of viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106, 345-351. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.05.041
16. Al Daccache, M., Koubaa, M., Maroun, R. G., Salameh, D., Louka, N., & Vorobiev, E. (2020). Impact of the Physicochemical Composition and Microbial Diversity in Apple Juice Fermentation Process: A Review. *Molecules*, 25(16), 3698. DOI:10.3390/molecules25163698.
17. Pretorius, I. S. (2003). The genetic analysis and tailoring of wine yeasts. *In Functional Genetics of Industrial Yeasts*, 99-142. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
18. Kwaw E., Ma Y., Tchabo W., Apaliya M.T., Wu M., Sackey A.S., Xiao L., Tahir H.E. (2018). Effect of *Lactobacillus* strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food Chemistry*. 250, 148-154. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.009.
19. Zheng, X., Yu, Y., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., Tang, D., & Zhang, Y. (2014). Comparing product stability of probiotic beverages using litchi juice treated by high hydrostatic pressure and heat as substrates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 23, 61-67. DOI:10.1016/j.ifset.2014.01.013.
20. Chen, X. D., and Mujumdar, A. S. (2008). *Drying Technologies in Food Processing*. Wiley-Blackwell; pp. 26 - 29.
21. Chen, W., Xie, C., He, Q., Sun, J., & Bai, W. (2023). Improvement in color expression and antioxidant activity of strawberry juice fermented with lactic acid bacteria: A phenolic-based research. *Food Chemistry: X*, 17, 100535.
22. Lu, C., Li, Y., Wang, J., Qu, J., Chen, Y., Chen, X., Dai, S. (2021). Flower color classification and correlation between color space values with pigments in potted multiflora chrysanthemum. *Scientia Horticulturae* 283, 110082. DOI:10.1016/j.scienta.2021.110082.

23. Li, H., Guo, A., & Wang, H. (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry* 108(1), 1-13. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.
24. Alonso-Salces, R. M., Guyot, S., Herrero, C., Berrueta, L. A., Drilleau, J. F., Gallo, B., & Vicente, F. (2004). Chemometric characterisation of Basque and French ciders according to their polyphenolic profiles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 379, 464-475. DOI: 10.1007/s00216-004-2625-y

Optimizing cider fermentation conditions from passion fruit (*passiflora edulis sims*) by CCD (central composite design)

Nguyen Thi Kieu Diem^{1,*}, Le Hoang Thanh¹, Chau Van Dan¹, Tran Bach Long², Tran Chi Nhan²

¹Faculty of Fisheries-Technology, Can Tho Technical Economic College, Can Tho, Viet Nam

²Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Can Tho, Viet Nam

*ntkdiem@ctec.edu.vn

Abstract The present study determined the fermentation conditions of passion fruit (*Passiflora edulis Sims*) that affect the quality of cider products. The study conducted a survey various fruit/water ratios (1/1; 1/2; 1/3 w/v), Brix (17-19) °Bx; pH of fermentation fluid (3.0-5.0); the ratio of *Saccharomyces cerevisiae* BV818 (0.03-0.05)% w/v and the fermentation time (3-5) days) using the CCD center complex model. The results of the study showed that the optimal value for fermenting passion fruit cider included dilution ratio of fruit juice/water at 1/2(w/v), 18.45 °Brix ; pH 4.65; the yeast rate of 0.038% (w/v) for 3.36 days. The resulted passion fruit cider products was of good quality, with ethanol content of 4.72% (v/v), color values (L*, a*, b*), BI (browning index), color deviation (E) of 66.960.73; 27.34; 50.46 and 2.87, respectively, as well as achieved a good sensory value with a score of 18.74.

Keywords Alcoholic beverage, cider, passion fruit, *Saccharomyces cerevisiae*.

Sử dụng sữa đậu nành nảy mầm trong công thức panna cotta không chứa lactose

Nguyễn Quốc Duy*, Đặng Thanh Thủy, Nguyễn Vĩnh Lâm, Trần Thị An Bình, Võ Thị Ngọc Diễm, Châu Diễm Huynh, Lương Nguyễn Phi Nhựt

Viện Ứng dụng Công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành
*nquy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ứng dụng của sữa đậu nành nảy mầm trong việc phát triển công thức món tráng miệng panna cotta không chứa lactose dành cho đối tượng không dung nạp lactose. Kết quả đánh giá chất lượng của sữa đậu nành nảy mầm sau 0 ngày, 1 ngày và 2 ngày cho thấy hàm lượng phenolic và flavonoid tổng có xu hướng tăng dần và đạt cực đại lần lượt là 526,70 mg GAE/L và 1427,31 mg QE/L) sau 1 ngày nảy mầm trước khi giảm ở ngày thứ 2. Kết quả tương tự cũng được quan sát cho hoạt tính chống oxy hóa với hoạt tính khử gốc tự do ABTS đạt 817,27 mg TE/L và hoạt tính khử sắt FRAP đạt 190,64 mg TE/L sau 1 ngày nảy mầm. Sữa đậu nành nảy mầm sau đó được ứng dụng trong công thức panna cotta và sản phẩm được bảo quản lạnh trong 10 ngày để đánh giá sự thay đổi chất lượng. Kết quả cho thấy độ vàng thể hiện xu hướng tăng rõ rệt sau 10 ngày và các mẫu panna cotta từ sữa đậu nành nảy mầm thể hiện độ vàng cao hơn so với panna cotta truyền thống ngay từ ngày đầu bảo quản. Panna cotta từ sữa đậu nành không nảy mầm có độ cứng cao nhất, trong khi các mẫu sử dụng sữa đậu nành nảy mầm có độ cứng thấp hơn so với mẫu panna cotta truyền thống từ sữa bò. Ngoài ra, độ cứng của tất cả các mẫu đều tăng đáng kể theo thời gian bảo quản lạnh.

Nhận 03/09/2024
Được duyệt 23/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
chất chống oxy hóa,
đậu nành nảy mầm,
Panna cotta,
phân tích kết cấu

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Hiện nay, nhu cầu về thực phẩm từ thực vật ngày càng tăng do quan tâm về sức khỏe, tính bền vững và đạo đức ăn uống, cùng với sự phổ biến của chứng không dung nạp lactose toàn cầu. Chứng không dung nạp lactose ảnh hưởng đến khoảng 70 % dân số toàn cầu, tạo ra nhu cầu cấp thiết về các sản phẩm thay thế không chứa lactose hoặc hoàn toàn không có sữa [1]. Xu hướng này không chỉ phục vụ những người không dung

nạp lactose mà còn đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng về chế độ ăn dựa trên thực vật, được thúc đẩy bởi các yếu tố sức khỏe, đạo đức và môi trường [2]. Ngay cả các loại thực phẩm thông thường như món tráng miệng lạnh cũng đã được điều chỉnh để đáp ứng nhu cầu thay đổi của người tiêu dùng. Món tráng miệng truyền thống panna cotta – một món ăn Ý đặc trưng được làm từ kem, sữa, đường và gelatin cũng đang được điều chỉnh để đáp ứng nhu cầu thay đổi của người tiêu dùng [3]. Việc phát triển panna cotta từ nguồn gốc thực vật như

đậu nành, dừa, hạnh nhân, hạt điều và yến mạch là một bước tiến đáng chú ý, phản ánh xu hướng hướng tới các sản phẩm có nguồn gốc thực vật của ngành công nghiệp thực phẩm.

Đậu nành (*Glycine max* (L.) Merr.), thuộc họ Fabaceae, là cây trồng phổ biến có giá trị kinh tế cao. Nó nổi bật với khả năng sản xuất dầu ăn (khoảng 20 %) và hàm lượng protein đáng kể (20-25) % [4]. Đậu nành (ĐN) là nguồn cung cấp chất béo và protein chất lượng cao, rẻ tiền và an toàn cho con người so với các loại cây họ đậu và protein động vật khác. Sản lượng ĐN toàn cầu đạt 358 triệu tấn vào năm 2021/2022, Brazil là nhà sản xuất và xuất khẩu lớn nhất, tiếp theo là Hoa Kỳ, Argentina, Trung Quốc và Ấn Độ [5]. ĐN có thể được chế biến thành các sản phẩm thực phẩm tổng hợp, thay thế protein động vật, đồng thời cung cấp isoflavone, phytosterol, acid phytic và saponin quan trọng cho cơ thể. ĐN được tiêu thụ chủ yếu ở hai dạng bao gồm sản phẩm ĐN thô hoặc chiết xuất (bột ĐN, đậm ĐN tinh khiết, sữa ĐN, dầu ĐN) và các sản phẩm ĐN lên men (nước tương, đậu hũ, súp miso) [6]. Bên cạnh đó, ở nhiều nền văn hóa trên thế giới việc nảy mầm hạt cây họ đậu là một trong những phương pháp nâng cao giá trị dinh dưỡng và tăng các hợp chất sinh học có lợi cho sức khỏe thường gắn liền với các sản phẩm ĐN lên men. Đặc biệt, quá trình nảy mầm ĐN đã được chứng minh là có khả năng nâng cao giá trị dinh dưỡng và tăng các hợp chất sinh học có lợi cho sức khỏe. Trong quá trình nảy mầm, hạt sử dụng năng lượng dự trữ để tổng hợp các thành phần tế bào, gây ra sự thay đổi đáng kể về các đặc tính sinh hóa [7]. ĐNNM trong 18 giờ hoặc lâu hơn sẽ kích hoạt các protease nội sinh, có thể tạo điều kiện giải phóng các peptide. Ngoài ra, việc nảy mầm của ĐN làm tăng hàm lượng acid amine tự do, chất xơ và các chất chuyển hóa khác, từ đó làm tăng mật độ của các hợp chất hoạt tính sinh học có lợi cho sức khỏe. Quá trình nảy mầm có thể tăng cường giải phóng các hợp chất hoạt tính sinh học khi tiêu thụ qua quá trình tiêu hóa [8]. Những hợp chất hoạt tính sinh học này có khả năng làm giảm tình trạng viêm mãn tính, một trong những yếu tố chính gây ra rối loạn chuyển hóa.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích phát triển một loại thực phẩm thay thế món tráng miệng lạnh có nguồn gốc thực vật, không chứa lactose phù hợp với người không dung nạp lactose hoặc những đối tượng chọn thực phẩm có nguồn gốc thực vật. Sau khi thu nhận ĐNNM sau 1 và 2 ngày, một số tính chất hóa lý của sữa mầm ĐN bao gồm hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa được phân tích trước khi sữa đậu nành nảy mầm (ĐNNM) sử dụng để thay thế sữa bò trong công thức panna cotta từ sữa ĐNNM không chứa lactose. Sự thay đổi chất lượng của sản phẩm được đánh giá thông qua các tính chất về màu sắc, cấu trúc, vi sinh và sự chấp nhận về mặt cảm quan của người tiêu dùng.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu và hóa chất

Nguyên liệu được sử dụng trong nghiên cứu này là ĐN giống HLĐN910 có màu vàng sáng được cung cấp bởi Công ty TNHH Nông nghiệp NOSAGO (Đắk Lắk, Việt Nam). ĐN sau khi mua về được bảo quản trong bao ở nhiệt độ phòng tránh ánh nắng mặt trời và nơi ẩm ướt. Nguyên liệu được sử dụng trong quá trình sản xuất panna cotta bao gồm kem sữa tươi từ thực vật chứa 35 % chất béo (Công ty TNHH Rich Products, Bình Dương, Việt Nam), gelatine dạng lá 170 Bloom (Gelita AG, Germany), đường xay tinh khiết (Công ty cổ phần mía đường Lam Sơn, Thanh Hóa, Việt Nam). Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đạt chuẩn phân tích.

2.2 Thiết bị bao gồm Brix kế cầm tay Master-53M (Japan), máy đo màu cầm tay NR110 (China), tủ sấy LO-FS100 (Korea), tủ nung FX-05 (Korea), máy đo quang phổ UV-9000 (China), máy phân tích kết cấu CT3 (USA).

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Quy trình thu nhận ĐNNM

Quy trình thu nhận ĐNNM được tham khảo từ nghiên cứu [9] với một số chỉnh sửa. ĐN sau khi loại bỏ những hạt không đạt chất lượng được rửa bằng NaCl (0,9 %) và ngâm nước trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng để hấp thụ nước. Sau khi ngâm, hạt được rửa sạch và để ráo nước rồi được ủ trong điều kiện ẩm và thoáng khí. Trong khay có lót vải ẩm giữ ở nhiệt độ phòng và không để

ánh sáng trực tiếp chiếu vào. Trong quá trình ủ, hạt được tưới nước 1 lần mỗi ngày để duy trì độ ẩm. Sau (1 và 2) ngày, đậu nảy mầm được thu nhận và được loại bỏ mầm và vỏ hạt. Cuối cùng hạt được làm sạch và bảo quản ở nhiệt độ -20°C .

2.3.2 Quy trình sản xuất panna cotta từ sữa ĐNNM

Đầu tiên, ĐN được làm sạch và xay với nước theo tỉ lệ 1:2 (g/mL) để thu nhận sữa ĐN. Hỗn hợp này được lọc qua vải lọc để loại bỏ chất rắn, tiếp đó được gia nhiệt dưới điều kiện khuấy trộn liên tục cho đến khi đạt nhiệt độ 80°C . Sau khi giữ nhiệt trong vòng 20 phút ở 90°C , kem sữa tươi được thêm vào với tỉ lệ 1,5:2 (v/v) và gelatin đã ngâm trước đó được thêm vào và khuấy đều cho đến khi tan hoàn toàn. Hỗn hợp được rót vào khuôn và để nguội ở nhiệt độ phòng trước khi được bảo quản ở 6°C trong (4-6) giờ để panna cotta đông lại.

2.4 Phương pháp phân tích

2.4.1 Độ ẩm, hàm lượng tro và chỉ số màu sắc

Độ ẩm và hàm lượng tro được xác định bằng cách sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi và phương pháp tro hóa ở 600°C . Các thuộc tính màu trong không gian màu CIELAB, bao gồm độ sáng (L^*), độ đỏ (a^*), độ vàng (b^*), sắc độ (C^*) và sắc độ (h°), được đo bằng máy đo màu chính xác NR110 (3NH Technology Co. Ltd., China) tại năm điểm ngẫu nhiên trên bề mặt.

2.4.2 Tổng hàm lượng phenolic

Hàm lượng phenolic tổng được xác định bằng phương pháp Folin–Ciocalteu đã được sửa đổi với chất chuẩn acid gallic dựa trên ISO 14502-1. Đầu tiên, 0,6 mL mẫu đã được chiết và pha loãng được thêm vào 1,5 mL thuốc thử Folin–Ciocalteu (10 % v/v trong nước cất). Dung dịch được giữ trong 5 phút trước khi thêm 1,2 mL Na_2CO_3 7,5 %. Sau khi thêm Na_2CO_3 , hỗn hợp này được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau thời gian ủ, mật độ quang của mẫu được đo ở bước sóng 765 nm. Tổng hàm lượng phenolic của mẫu được biểu thị bằng lượng mg đương lượng acid gallic trong 1 L sữa ĐN (mg GAE/L).

2.4.3 Tổng hàm lượng flavonoid

Tổng hàm lượng flavonoid được đo bằng phương pháp tạo phức với ion nhôm [10]. Chất chiết hoặc dung dịch chuẩn (250 μL) được trộn với dung dịch NaNO_2 5 % (75 μL). Để yên trong 6 phút, hỗn hợp này được kết

hợp với dung dịch $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 10 % (150 μL) trong 5 phút, sau đó thêm 0,5 mL NaOH 1 M và 2.0 mL nước cất vào hỗn hợp. Độ hấp thụ của dung dịch được đo ở bước sóng 510 nm sau phản ứng trong 15 phút. Quercetin được sử dụng để tính hàm lượng flavonoid tổng số và kết quả được biểu thị bằng mg đương lượng quercetin trong 1 L sữa ĐN (mg QE/L).

2.4.4 Hoạt tính khử sắt FRAP

Xét nghiệm FRAP được tiến hành như mô tả trong nghiên cứu [11] với một số điều chỉnh. Thuốc thử FRAP được chuẩn bị mới trước mỗi phép đo bằng cách trộn dung dịch đệm acetate (300 mM), TPTZ (10 mM trong HCl 40 mM) và FeCl_3 (20 mM) theo tỷ lệ 10:1:1 (v/v/v) và ủ ở 37°C trong 10 phút trước khi sử dụng. Để phân tích, 2,8 mL thuốc thử FRAP được trộn với 0,2 mL dung dịch mẫu và ủ ở 37°C trong 10 phút trước khi đo độ hấp thụ ở bước sóng 593 nm trên máy UV-Vis. Hoạt tính chống oxy hóa FRAP được biểu thị bằng mg đương lượng Trolox trong 1 L sữa ĐN (mg TE/L).

2.4.5 Hoạt tính khử gốc tự do ABTS

Thử nghiệm ABTS được thực hiện theo phương pháp như mô tả trong nghiên cứu [11] với một số điều chỉnh. Đầu tiên, thuốc thử ABTS rắn và kali persulfate được hòa tan trong nước cất ở nồng độ ABTS là 7 mM và nồng độ kali persulfate là 2,45 mM. Hai dung dịch được trộn theo tỷ lệ 1:1 (v/v) và hỗn hợp được để trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, dung dịch gốc ABTS được pha loãng bằng nước cất cho đến khi đạt được độ hấp thụ 1,1, ở 734 nm. Sau đó, mẫu phân tích (0,2 mL) được thêm vào 2,8 mL dung dịch ABTS hiệu chỉnh và hỗn hợp được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ ở 734 nm được xác định bằng máy quang phổ UV-Vis và kết quả được biểu thị bằng mg đương lượng Trolox trong 1 L sữa ĐN (mg TE/L).

2.4.6 Chỉ tiêu vi sinh

Các phương pháp phân tích vi sinh được thực hiện theo mô tả ISO 4833-1:2013 đối với tổng số lượng vi khuẩn hiếu khí (ủ 72 giờ, 30°C), ISO 4832:2006 đối với số lượng coliforms (ủ 24 giờ, 37°C), ISO 16649-2:2001 đối với vi khuẩn *E. coli* (ủ 24 giờ, 44°C), ISO 21527-2:2008 định lượng tổng số nấm men và nấm mốc (ủ 3 ngày, 25°C). Số lượng vi sinh vật được biểu thị bằng

số đơn vị hình thành khuẩn lạc trên mỗi gam mẫu (CFU/g).

2.4.7 Cấu trúc

Các thuộc tính kết cấu của panna cotta được xác định bằng cách sử dụng máy phân tích kết cấu CT3 (AMETEK Brookfield Inc., Middleboro, USA) được trang bị đầu dò hình trụ TA4/1000 [12]. Các tham số thử nghiệm được thiết lập bao gồm khoảng cách di chuyển đầu dò 50 mm, lực kích hoạt là 5 g và tốc độ thử nghiệm là 2,0 mm/s và được lặp lại hai lần. Phần mềm TexturePro CT Software được sử dụng để thu thập và xử lý số liệu.

2.5 Xử lý thống kê

Dữ liệu thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm SPSS 26 (SPSS Inc. Chicago, U.S.A) sử dụng những kỹ thuật thống kê cơ bản. Phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA) được áp dụng để xác định sự khác nhau giữa các chế độ xử lý mẫu và Tukey's Multiple

Range test được áp dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa 5 %.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của quá trình nảy mầm lên chất lượng của ĐN nảy mầm

3.1.1 Thành phần dinh dưỡng của ĐN nảy mầm

Ảnh hưởng của thời gian nảy mầm lên thành phần dinh dưỡng và độ dài của mầm từ hạt ĐN đã nảy mầm được thể hiện trong Bảng 1. Kết quả cho thấy quá trình nảy mầm của hạt ĐN được quan sát trong khoảng thời gian từ 0 đến 2 ngày cho thấy sự phát triển đáng kể của mầm. Cụ thể, chiều dài mầm tăng dần theo thời gian, đạt 1,34 cm sau 1 ngày và 4,13 cm sau 2 ngày nảy mầm. Điều này cho thấy trong quá trình nảy mầm của ĐN đã giải phóng năng lượng dự trữ bằng cách phân hủy các chất dinh dưỡng đa lượng thành các đơn vị nhỏ hơn nhằm giải phóng năng lượng cho mầm phát triển [7].

Bảng 1 Thành phần của ĐNNM

Chỉ tiêu đo	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2
Ẩm (%)	57,33 ± 0,20 ^a	57,95 ± 0,67 ^a	60,13 ± 0,52 ^b
Tro (%)	2,07 ± 0,09 ^a	2,02 ± 0,06 ^a	1,16 ± 0,06 ^b
Protein (%)	36,30 ± 0,28 ^a	17,50 ± 0,71 ^b	16,25 ± 0,35 ^c
Chiều dài mầm (cm)	-	1,43 ± 0,15 ^a	4,13 ± 0,32 ^b

Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp. Giá trị trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5 % ($p < 0,05$).

Ngoài ra, độ ẩm của các mẫu ĐN duy trì ở mức cao, từ 57,33 % đến 60,13 %, và không có sự khác biệt đáng kể giữa các mức thời gian nảy mầm khác nhau. Ngược lại, hàm lượng tro và protein lại có xu hướng giảm dần theo thời gian nảy mầm, với mức sụt giảm khoảng 50 % so với mẫu ban đầu. Sự suy giảm hàm lượng tro trong quá trình ngâm có thể được lý giải bởi sự mất mát khoáng chất do quá trình rửa trước và sau khi nảy mầm. Quá trình này làm trôi đi một phần các ion khoáng chất hòa tan, dẫn đến sự sụt giảm tổng lượng tro trong hạt [13]. Đối với protein, sự giảm hàm lượng được giải thích do trong quá trình nảy mầm nitơ di chuyển vào nước trong quá trình ngâm và một phần protein được sử dụng để cung cấp năng lượng cho quá trình nảy mầm. Hoạt động thủy phân của enzyme protease trong quá trình nảy mầm giúp hòa tan các protein không tan

trong nước tự nhiên như albumin và globulin, từ đó tạo điều kiện giải phóng acid amine và peptide từ protein trong ĐN. Hơn nữa, trong quá trình nảy mầm, các protein không hòa tan được phân hủy thành dạng hòa tan, được sử dụng làm nguồn nitơ chính cho quá trình trao đổi chất của hạt nảy mầm [14]. Quá trình này không chỉ làm giảm hàm lượng protein tổng số mà còn tạo ra các peptide và acid amine tự do, có thể cải thiện giá trị dinh dưỡng và tính dễ tiêu hóa của ĐNNM [15]. Hơn nữa, thời gian nảy mầm ảnh hưởng đến hàm lượng protein hòa tan. Hàm lượng protein tăng lên xảy ra vì quá trình nảy mầm làm tăng hoạt động của các enzyme nội tại (amylase, protease, phytase và enzyme phá vỡ chất xơ), cuối cùng cải thiện khả năng tiêu hóa chất dinh dưỡng. Quá trình nảy mầm kích hoạt sản xuất các enzyme khác nhau, có thể chịu trách nhiệm cho quá

trình tổng hợp sinh học protein hoặc phân hủy protein phức tạp. Sự kết hợp giữa ngâm, nảy mầm và nấu chín làm tăng giá trị dinh dưỡng của các loại đậu bằng cách tăng khả năng tiêu hóa protein/tinh bột và hàm lượng vitamin và giảm các hợp chất chống dinh dưỡng.

3.1.2 Hàm lượng phenolic, flavonoid tổng và hoạt tính chống oxy hóa

Tổng hàm lượng phenolic và flavonoid của mẫu sữa ĐNNM tăng đáng kể so với mẫu sữa ĐN thông thường (Bảng 2). Hàm lượng phenolic và flavonoid tổng có xu hướng tăng dần và đạt cực đại lần lượt là 526,70 mg GAE/L và 1427,31 mg QE/L) sau 1 ngày nảy mầm trước

khí giảm ở ngày thứ 2 của quá trình nảy mầm. Điều này có thể là do acid phenolic tồn tại ở dạng tự do và dạng liên kết trong thực vật được giải phóng trong quá trình nảy mầm. Sự gia tăng hàm lượng phenolic và flavonoid sau khi nảy mầm có thể là do hoạt động tăng cường của các enzyme phân hủy thành tế bào, giúp thủy phân thành tế bào và giải phóng các chất phức tạp, từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết xuất và tăng hàm lượng phenolic và flavonoid tự do [16]. Tuy nhiên, sự giảm hợp chất phenolic và flavonoid có thể được giải thích do các hợp chất này được sử dụng làm chất chống oxy hóa để bảo vệ mầm đang phát triển khỏi stress oxy hóa.

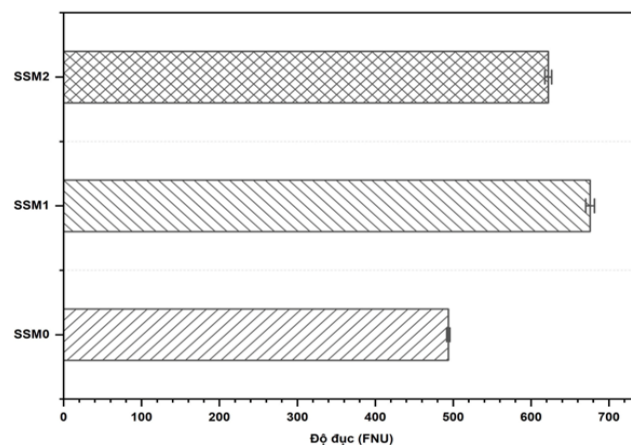
Bảng 2 Hàm lượng phenolic, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của sữa ĐNNM.

Chỉ tiêu đo	SSM0	SSM1	SSM2
Phenolic (mg GAE/L)	487,33 ± 6,80 ^a	526,70 ± 13,19 ^b	431,81 ± 9,43 ^c
Flavonoid (mg QE/L)	584,32 ± 23,05 ^a	1427,31 ± 76,92 ^b	1016,34 ± 63,51 ^c
ABTS (mg TE/L)	680,90 ± 71,16 ^a	817,27 ± 29,53 ^b	737,13 ± 18,67 ^c
FRAP (mg TE/L)	166,52 ± 6,77 ^a	190,64 ± 12,76 ^b	145,08 ± 5,07 ^c

Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp. Giá trị trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5 % (p < 0,05). SSM0: sữa ĐN trước khi nảy mầm; SSM1: sữa ĐNNM sau 1 ngày; SSM2: sữa ĐNNM sau 2 ngày.

Ngoài ra, kết quả phân tích hoạt tính chống oxy hóa ABTS và FRAP của sữa ĐNNM được trình bày trong Bảng 2 cũng cho thấy sự biến động đáng kể theo thời gian nảy mầm. Có thể thấy rằng hoạt tính chống oxy hóa của cả hai phương pháp đều đạt giá trị cực đại sau 1 ngày nảy mầm (với ABTS đạt 817,27 mg TE/L và FRAP đạt 190,64 mg TE/L), sau đó giảm dần khi kéo dài thời gian nảy mầm lên 2 ngày. Xu hướng này tương đồng với sự thay đổi hàm lượng phenolic và flavonoid đã được ghi nhận trước đó, cho thấy mối quan hệ chặt chẽ giữa các hợp chất phenolic và hoạt tính chống oxy hóa trong ĐN nảy mầm. Sự gia tăng hoạt tính chống oxy hóa này có thể được giải thích bởi quá trình nảy mầm thúc đẩy sự hình thành các phenol hòa tan có khả năng khử gốc tự do mạnh mẽ cũng như sự hoạt hóa của các enzyme nội sinh như phenylalanine-ammonialyase và esterase trong quá trình nảy mầm [17]. Ngoài ra, các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng sự nảy mầm có thể tăng cường đáng kể khả năng chống oxy hóa của chiết xuất hòa tan từ hạt và mầm ăn được nảy mầm so với hạt sống [16].

3.1.3 Độ đục



Hình 1 Độ đục của sữa ĐN không nảy mầm (SSM0) và sữa ĐN thu nhận từ hạt ĐN sau 1 ngày (SSM1) và 2 ngày (SSM2) nảy mầm.



Hình 2 Sữa ĐNNM ở các thời gian nẩy mầm khác nhau: (A) 0 ngày, (B) 1 ngày và (C) 2 ngày.

Kết quả phân tích độ đục của sữa ĐNNM được trình bày trong Hình 1 và minh họa trực quan qua Hình 2 cho thấy sự gia tăng đáng kể theo thời gian nẩy mầm. Có thể thấy rằng giá trị độ đục tăng từ 493,78 FNU ở mẫu đối chứng lên (622,11-675,89) FNU sau (1 và 2) ngày nẩy mầm. Sự thay đổi này có thể được giải thích bởi quá trình thủy phân carbohydrate trong quá trình này

mầm và sự hòa tan đường tăng lên do xử lý nhiệt [7]. Đáng chú ý, quá trình xử lý nhiệt không chỉ làm tăng độ đục mà còn đóng vai trò quan trọng trong việc biến tính các thành phần kháng dinh dưỡng, kéo dài thời hạn sử dụng, cải thiện độ ổn định và các đặc tính cảm quan của sản phẩm cuối cùng. Nhiều nghiên cứu trước đây cũng đã chỉ ra rằng xử lý nhiệt là bước cần thiết để đạt được và duy trì độ ổn định độ đục của sữa ĐN. Những phát hiện này không chỉ giải thích sự khác biệt về màu sắc và độ đục quan sát được, mà còn nhấn mạnh tầm quan trọng của quá trình xử lý nhiệt trong sản xuất sữa ĐNNM chất lượng cao.

3.2 Sự thay đổi chất lượng của panna cotta từ sữa ĐNNM trong quá trình bảo quản

3.2.1 Màu sắc

Sự thay đổi của chỉ số màu sắc của bánh panna cotta không chứa lactose từ sữa ĐNNM bị ảnh hưởng bởi thời gian nẩy mầm được trình bày trong Bảng 3.

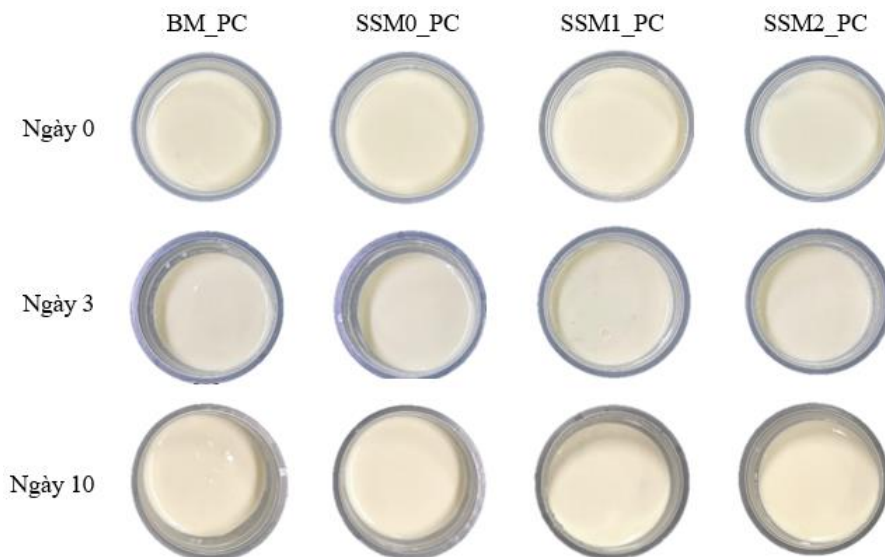
Bảng 3 Sự thay đổi thuộc tính màu sắc của panna cotta từ sữa ĐNNM theo thời gian bảo quản

Mẫu khảo sát	Thời gian bảo quản (ngày)		
	0	3	10
	L^*		
BM_PC	$90,60 \pm 2,32^{Ab}$	$88,10 \pm 1,29^{Ba}$	$90,40 \pm 0,84^{Ab}$
SSM0_PC	$89,30 \pm 1,42^{Ab}$	$83,70 \pm 5,50^{Aa}$	$90,50 \pm 1,65^{Ab}$
SSM1_PC	$90,00 \pm 0,82^{Ab}$	$87,10 \pm 2,47^{Ba}$	$91,40 \pm 0,97^{BAb}$
SSM2_PC	$92,80 \pm 1,81^{Bb}$	$88,60 \pm 1,07^{Ba}$	$92,30 \pm 1,49^{Bb}$
	b^*		
BM_PC	$9,75 \pm 0,46^{Aa}$	$9,22 \pm 0,44^{Ba}$	$21,00 \pm 1,05^{Bb}$
SSM0_PC	$11,20 \pm 0,42^{Bb}$	$9,14 \pm 0,38^{Ba}$	$21,10 \pm 1,10^{Bc}$
SSM1_PC	$12,30 \pm 0,48^{Cb}$	$6,50 \pm 0,55^{Aa}$	$19,50 \pm 0,71^{Ac}$
SSM2_PC	$11,80 \pm 0,79^{CBb}$	$6,89 \pm 1,05^{Aa}$	$20,10 \pm 0,57^{BAc}$
Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn của ba lần lặp. Giá trị trong cùng một hàng có chữ cái in thường và giá trị trong cùng một cột có chữ cái in hoa giống nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5 % ($p < 0,05$). BM_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa bò nguyên kem; SSM0_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN không nẩy mầm; SSM1_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 1 ngày nẩy mầm, SSM2_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 2 ngày nẩy mầm.			

Kết quả phân tích màu sắc của các mẫu panna cotta trong quá trình bảo quản được trình bày trên Bảng 3 và Hình 3. Giá trị độ sáng của tất cả các mẫu không có sự thay đổi đáng kể trong suốt thời gian bảo quản từ 0 đến 10 ngày trong khi độ vàng thể hiện xu hướng tăng rõ rệt, đặc biệt là sau 10 ngày. Hơn nữa, các mẫu panna

cotta từ sữa ĐNNM thể hiện độ vàng cao hơn so với panna cotta truyền thống ngay từ ngày đầu bảo quản. Sự gia tăng độ vàng theo thời gian, đặc biệt là ở các mẫu panna cotta từ sữa ĐN nẩy mầm, có thể được giải thích bởi quá trình thủy phân β -carotene. Quá trình này

được cho là một trong những hệ quả của việc bảo quản sản phẩm trong điều kiện độ ẩm và nhiệt độ cao.



Hình 3 Sự thay đổi ngoại quan của panna cotta từ sữa ĐNNM theo thời gian bảo quản. Ghi chú: BM_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa bò nguyên kem, SSM0_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN không này mầm, SSM1_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 1 ngày này mầm, SSM2_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 2 ngày này mầm.

3.2.2 Cấu trúc

Ảnh hưởng của việc thay thế sữa bằng sữa ĐNNM đến cấu trúc của panna cotta trong quá trình bảo quản được trình bày trong Bảng 4. Kết quả cho thấy mẫu panna cotta từ sữa ĐN không này mầm có độ cứng cao nhất, trong khi các mẫu sử dụng sữa ĐNNM có độ cứng thấp hơn so với mẫu truyền thống. Tuy nhiên, độ cứng của tất cả các mẫu đều tăng đáng kể theo thời gian bảo quản lạnh. Độ đàn hồi và độ co kết của các mẫu panna cotta từ sữa ĐNNM không có sự khác biệt đáng kể theo thời gian bảo quản, dao động trong khoảng 10,76-11,96 và 0,49-0,59 tương ứng. Độ dẻo và độ dai cũng có xu hướng tương tự như độ cứng, nhưng các mẫu từ sữa ĐNNM lại cao hơn so với mẫu truyền thống. Sự khác biệt này có thể do sự thay đổi trong thành phần protein và hàm lượng chất béo.

Khi hàm lượng chất béo giảm, có thể xảy ra mức độ liên kết chéo cao của các phân tử protein, dẫn đến mạng lưới ba chiều có khả năng chống biến dạng cao hơn. Nguồn protein sữa ảnh hưởng đáng kể đến độ cứng của sữa chua, với các mẫu bổ sung caseinate và protein sữa có độ cứng thấp hơn so với mẫu bổ sung đậm từ váng sữa cô đặc, nhưng vẫn cao hơn mẫu đối chứng [18]. Hơn nữa, việc này mầm nguyên liệu từ thực vật là một phương pháp thay thế cho việc xử lý bằng enzyme và cũng tiết kiệm chi phí. Việc kích hoạt các enzyme như amylase và protease có thể làm thay đổi đáng kể các đặc tính chức năng và thành phần của nguyên liệu thực vật [8]. Mức độ này mầm có thể là do quá trình thủy phân tinh bột gây ra sự thay đổi trong đặc tính tạo gel của sữa chua ĐN và sữa ĐN, dẫn đến đặc điểm kết cấu dễ chấp nhận hơn.

Bảng 4 Sự thay đổi thuộc tính cấu trúc của panna cotta từ sữa ĐNNM theo thời gian bảo quản

Mẫu khảo sát	Thời gian bảo quản (ngày)		
	0	3	10
	Độ cứng (hardness), g		
BM_PC	482,50 ± 67,18 ^{Ba}	581,50 ± 25,67 ^{Ab}	571,25 ± 36,30 ^{Aba}
SSM0_PC	663,00 ± 52,42 ^{Ca}	899,00 ± 52,33 ^{Bb}	1032,67 ± 77,15 ^{Bb}

SSM1_PC	274,75 ± 23,50 ^{Aa}	694,67 ± 45,28 ^{Ac}	601,00 ± 45,76 ^{Ab}
SSM2_PC	523,25 ± 56,39 ^{Ba}	612,00 ± 55,29 ^{Aba}	647,25 ± 27,46 ^{Ab}
<i>Độ đàn hồi (springiness), mm</i>			
BM_PC	11,58 ± 0,21 ^{Ba}	11,82 ± 0,16 ^{Aa}	11,92 ± 0,26 ^{Aa}
SSM0_PC	11,31 ± 0,51 ^{Aa}	11,40 ± 0,35 ^{Aa}	11,85 ± 0,45 ^{Aa}
SSM1_PC	10,76 ± 0,35 ^{Aa}	11,68 ± 0,19 ^{Ab}	11,77 ± 0,17 ^{Ab}
SSM2_PC	11,96 ± 0,25 ^{Ba}	11,50 ± 0,09 ^{Aa}	11,77 ± 0,61 ^{Aa}
<i>Độ cố kết (cohesiveness)</i>			
BM_PC	0,59 ± 0,02 ^{Ba}	0,54 ± 0,01 ^{Ab}	0,56 ± 0,03 ^{Aa}
SSM0_PC	0,52 ± 0,03 ^{Ba}	0,53 ± 0,04 ^{Aa}	0,52 ± 0,06 ^{Aa}
SSM1_PC	0,58 ± 0,06 ^{Ba}	0,57 ± 0,02 ^{Aa}	0,55 ± 0,04 ^{Aa}
SSM2_PC	0,49 ± 0,06 ^{Aa}	0,53 ± 0,01 ^{Aa}	0,51 ± 0,03 ^{Aa}
<i>Độ dẻo (gumminess)</i>			
BM_PC	221,00 ± 32,53 ^{Ba}	315,67 ± 15,18 ^{Ab}	296,00 ± 18,03 ^{Ab}
SSM0_PC	340,33 ± 17,95 ^{Ca}	458,00 ± 17,57 ^{Cb}	520,00 ± 33,96 ^{Bc}
SSM1_PC	151,25 ± 13,00 ^{Aa}	385,67 ± 19,14 ^{Bc}	326,50 ± 5,45 ^{Ab}
SSM2_PC	220,00 ± 4,24 ^{Ba}	335,00 ± 18,73 ^{Ab}	325,75 ± 15,48 ^{Ab}
<i>Độ dai (chewiness), mJ</i>			
BM_PC	25,45 ± 3,89 ^{Ba}	36,67 ± 1,13 ^{Ab}	36,15 ± 2,83 ^{Ab}
SSM0_PC	38,50 ± 2,33 ^{Ca}	52,53 ± 2,33 ^{Cb}	60,43 ± 1,13 ^{Bc}
SSM1_PC	16,90 ± 0,07 ^{Aa}	44,13 ± 2,85 ^{Bc}	37,75 ± 1,06 ^{Ab}
SSM2_PC	26,15 ± 0,64 ^{Ba}	37,83 ± 0,28 ^{Ab}	37,55 ± 1,01 ^{Ab}
Ghi chú: dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp. Giá trị trong cùng một hàng có chữ cái in thường và giá trị trong cùng một cột có chữ cái in hoa giống nhau thể hiện sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5 % ($p < 0,05$). BM_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa bò nguyên kem; SSM0_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN không nẩy mầm; SSM1_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 1 ngày nẩy mầm; SSM2_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 2 ngày nẩy mầm.			

3.2.3 Chất lượng vi sinh

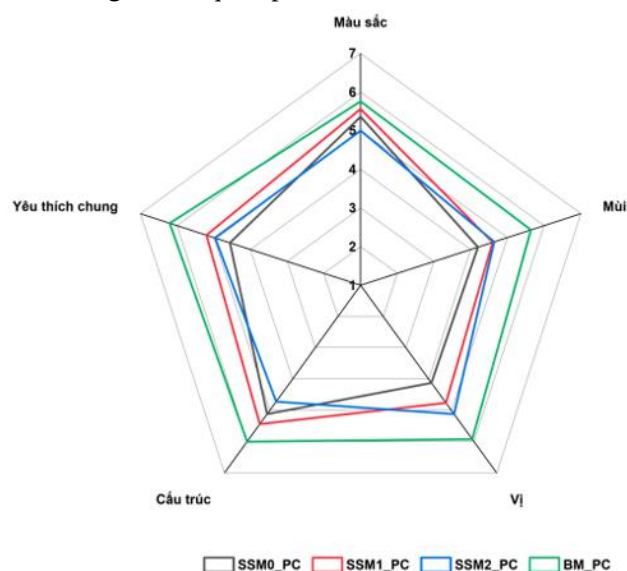
Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến chỉ số vi sinh của panna cotta từ sữa ĐNNM được trình bày trong Bảng 5. Kết quả cho thấy trong 10 ngày đầu bảo quản, cả 4 mẫu đều có chất lượng vi sinh phù hợp với tiêu chuẩn TCVN 12443:2018. Tuy nhiên, đến ngày thứ 10, có dấu hiệu của sự phát triển vi sinh vật, đặc biệt là ở hai mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN nẩy mầm.

Bảng 5 Chất lượng vi sinh của panna cotta từ sữa ĐNNM theo thời gian bảo quản

Mẫu khảo sát	Mật độ (CFU/g)			
	Tổng vi sinh vật hiếu khí	E. coli	Coliforms	Tổng men mốc
	Ngày 0			
Ngày 0				
BM_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM0_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM1_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM2_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
	Ngày 3			

BM_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM0_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM1_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM2_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Ngày 10</i>				
BM_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM0_PC	< 10	< 10	< 10	< 10
SSM1_PC	$3,2 \times 10^4$	< 10	$2,0 \times 10^3$	$9,1 \times 10^3$
SSM2_PC	$1,4 \times 10^4$	< 10	< 10	< 10
Ghi chú: BM_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa bò nguyên kem; SSM0_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN không nậy mầm; SSM1_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 1 ngày nậy mầm; SSM2_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 2 ngày nậy mầm.				

3.3 Đánh giá cảm quan panna cotta từ sữa ĐNNM



Hình 4 Đặc tính cảm quan của panna cotta từ sữa ĐNNM khi so sánh với panna cotta truyền thống từ sữa bò. Ghi chú: BM_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa bò nguyên kem, SSM0_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN không nậy mầm, SSM1_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 1 ngày nậy mầm, SSM2_PC: mẫu panna cotta sử dụng sữa ĐN sau 2 ngày nậy mầm.

Ảnh hưởng của phân tích đánh giá cảm quan của panna cotta từ sữa ĐNNM được trình bày trong Hình 4. Nhìn chung, mẫu panna cotta truyền thống được đánh giá cao nhất ở tất cả các tiêu chí cảm quan. Tuy nhiên, các mẫu từ sữa ĐNNM cũng thể hiện một số ưu điểm đáng kể. Về cấu trúc, mẫu panna cotta từ sữa ĐNNM ngày 2 và ngày 0 nhận được điểm thấp hơn so với hai mẫu còn

lại. Điều này có thể liên quan đến sự thay đổi trong thành phần và đặc tính của protein ĐN trong quá trình nậy mầm. Xét về vị, mặc dù mẫu panna cotta từ sữa bò vẫn được ưa chuộng hơn, tuy nhiên các mẫu từ sữa ĐNNM cũng nhận được đánh giá tích cực. Đáng chú ý, mùi của hai mẫu panna cotta từ sữa ĐNNM ngày 1 và ngày 2 được yêu thích hơn so với mẫu ngày 0. Sự cải thiện này cho thấy quá trình nậy mầm có thể nâng cao hương vị và các đặc tính cảm quan của sản phẩm từ ĐN. Sự cải thiện về mùi trong các mẫu từ sữa ĐNNM có thể được giải thích bởi sự hình thành các hợp chất hương thơm mới trong quá trình nậy mầm có thể đóng vai trò như tiền chất cho việc hình thành các hợp chất mùi thơm dễ chịu [19]. Điều này không chỉ làm tăng hương vị tổng thể mà còn góp phần cải thiện cảm nhận về mùi của sản phẩm.

4 Kết luận

Việc sử dụng đậu nậy mầm trong các món tráng miệng không chứa lactose mở ra một hướng đi đầy hứa hẹn để tăng cường giá trị dinh dưỡng và các đặc tính chức năng hướng đến các đối tượng người dùng mới. Nậy mầm là một quá trình sinh học tự nhiên có thể thay đổi đáng kể thành phần dinh dưỡng của đậu, khiến chúng phù hợp với các sản phẩm thực phẩm mới như món tráng miệng không chứa lactose. Quá trình này không chỉ cải thiện khả dụng sinh học của các chất dinh dưỡng mà còn tăng cường các đặc tính cảm quan và chức năng của sản

phẩm cuối cùng. Kết quả cho thấy quá trình nảy mầm sau 1 ngày làm tăng đáng kể hàm lượng các chất chống oxy hóa và hoạt tính của chúng. Xét về mặt cảm quan, các mẫu panna được thay thế hoàn toàn bằng sữa ĐNNM cũng thể hiện sự yêu thích về thuộc tính cấu

trúc và mùi vị. Tóm lại, sữa ĐNNM là một lựa chọn thay thế tiềm năng trong các món tráng miệng không chứa lactose, tăng cường cả lợi ích sức khỏe và chất lượng cảm quan so với sữa ĐN không nảy mầm.

Tài liệu tham khảo

1. Forsgård, R. A. (2019). Lactose digestion in humans: intestinal lactase appears to be constitutive whereas the colonic microbiome is adaptable. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 110(2), 273-279.
2. Miki, A. J., Livingston, K. A., Karlsen, M. C., Foltz, S. C., & McKeown, N. M. (2020). Using evidence mapping to examine motivations for following plant-based diets. *Current Developments in Nutrition*, 4(3), nzaa013.
3. Bekiroglu, H., Goktas, H., Karaibrahim, D., Bozkurt, F., & Sagdic, O. (2022). Determination of rheological, melting and sensorial properties and volatile compounds of vegan ice cream produced with fresh and dried walnut milk. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28, 100521.
4. Paul, A. A., Kumar, S., Kumar, V., & Sharma, R. (2020). Milk Analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18), 3005-3023.
5. Soni, K., Frew, R., & Kebede, B. (2023). A review of conventional and rapid analytical techniques coupled with multivariate analysis for origin traceability of soybean. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(19), 6616-6635.
6. Modgil, R., Tanwar, B., Goyal, A., & Kumar, V. (2021). Soybean (*Glycine max*). *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*, 1-46.
7. Xing, B., Teng, C., Sun, M., Zhang, Q., Zhou, B., Cui, H., Ren, G., Yang, X., & Qin, P. (2021). Effect of germination treatment on the structural and physicochemical properties of quinoa starch. *Food Hydrocolloids*, 115, 106604.
8. Ohanenye, I. C., Tsopmo, A., Ejike, C. E. C. C., & Udenigwe, C. C. (2020). Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of legume proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 213-222.
9. Nguyen, T.-T.-D., Truong, D.-M.-C., Nguyen, P.-B., Nguyen, Q.-D., & Nguyen, T.-V.-L. (2022). Effects of blanching on some quality characteristics of sprouted-dried peanuts. *AIP Conference Proceedings*, 2610(1), 060001.
10. Juan, M.-Y., & Chou, C.-C. (2010). Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715. *Food Microbiology*, 27(5), 586-591.
11. Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123470.
12. Nguyen, N., Do, A. D., Phan Van, T., Nguyen, V., Tran, M., & Nguyen, Q. (2024). Development of dairy-free soybean-based yoghurt by active dry starter culture from kombucha: an investigation into microencapsulation, curd formation, protein and texture profiles during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 59(4), 2383-2399.

13. Maldonado-Alvarado, P., Pavón-Vargas, D. J., Abarca-Robles, J., Valencia-Chamorro, S., & Haros, C. M. (2023). Effect of germination on the nutritional properties, phytic acid content, and phytase activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Foods*, 12(2), 389.
14. Gunathunga, C., Senanayake, S., Jayasinghe, M. A., Brennan, C. S., Truong, T., Marapana, U., & Chandrapala, J. (2024). Germination effects on nutritional quality: A comprehensive review of selected cereals and pulses changes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 128, 106024.
15. Bagarinao, N. C., King, J., Leong, S. Y., Agyei, D., Sutton, K., & Oey, I. (2024). Effect of Germination on Seed Protein Quality and Secondary Metabolites and Potential Modulation by Pulsed Electric Field Treatment. *Foods*, 13(11), 1598.
16. Singh, A., Sharma, S., Singh, B., & Kaur, G. (2019). In vitro nutrient digestibility and antioxidative properties of flour prepared from sorghum germinated at different conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 3077-3089.
17. Waleed, A.-A., Mahdi, A. A., Al-Maqtari, Q. A., Mushtaq, B. S., Ahmed, A., Karrar, E., Mohammed, J. K., Fan, M., Li, Y., & Qian, H. (2020). The potential improvements of naked barley pretreatments on GABA, β -glucan, and antioxidant properties. *LWT*, 130, 109698.
18. Morell, P., Piqueras-Fiszman, B., Hernando, I., & Fiszman, S. (2015). How is an ideal satiating yogurt described? A case study with added-protein yogurts. *Food Research International*, 78, 141-147.
19. Yang Mei, Y. M., & Li Li, L. L. (2010). Physicochemical, textural and sensory characteristics of probiotic soy yogurt prepared from germinated soybean. *Food Technology and Biotechnology*, 48(4), 490-496.

Application of germinated soy milk in the development of lactose-free panna cotta

Nguyen Quoc Duy*, Dang Thanh Thuy, Nguyen Vinh Lam, Tran Thi An Binh, Vo Thi Ngoc Diem, Chau Diem Huynh, Luong Nguyen Phi Nhut,

Institute of Applied Technology and Sustainable Development, Nguyen Tat Thanh University

*nqduy@ntt.edu.vn

Abstract The study was conducted to evaluate the applicability of germinated soy milk in developing a lactose-free panna cotta dessert recipe for people with lactose intolerance. The quality assessment of soy milk germinated after 0 day, 1 day and 2 days showed that the total phenolic and flavonoid contents exhibited an upward trend, peaking at 526.70 mg GAE/L and 1427.31 mg QE/L, respectively, after 1 day of germination. However, these levels subsequently declined on the following day. Similar results were also observed for antioxidant activity with ABTS free radical scavenging activity and FRAP ferric reducing activity reaching 817.27 mg TE/L and 190.64 mg TE/L after 1 day of germination, respectively. The germinated soy milk was then incorporated into the panna cotta recipe and the products were refrigerated for 10 days to evaluate the quality change. It can be seen that the yellowness showed a clear increase after 10 days, and the panna cotta samples from germinated soy milk showed higher yellowness than the traditional panna cotta even from the first day of storage. The panna cotta from non-germinated soy milk had the highest firmness; whereas the panna cotta samples from germinated soy milk showed less firmness compared to the traditional panna cotta made from cow's milk. In addition, the firmness of all samples increased significantly over storage time.

Keywords Panna cotta; Germinated soybean; Antioxidant; Texture.



Thiết lập quy trình khử hóa tế bào kết hợp khử khoáng xương bò để chế tạo mô xương ghép ứng dụng trong nha khoa tái tạo

Võ Thị Thủy Tiên^{1,*}, Nguyễn Khánh Hòa², Huỳnh Duy Thảo²

¹Khoa Răng Hàm Mặt, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Khoa học Cơ bản – Y học Cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

*vtttien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Mục tiêu nghiên cứu là đánh giá hiệu quả của quy trình khử hóa tế bào kết hợp khử khoáng xương bò để chế tạo mô xương ghép ứng dụng trong nha khoa tái tạo. Mô xương được thu nhận từ chỏm xương đùi bò, làm sạch và khử trùng. Sau đó mô xương được khử hóa tế bào bằng cách ngâm lần lượt trong NaCl 1 M, hỗn hợp KCl 0,075 M và EDTA 0,1 %, hỗn hợp SDS 0,5 % và EDTA 0,1 %. Mô xương tiếp tục được khử khoáng bằng hỗn hợp HCl 8 % và axit formic 8 %. Phổ tán xạ năng lượng tia X ghi nhận hàm lượng canxi và photpho trong mô xương giảm gần 90 % so với ban đầu ($p < 0,001$). Trọng lượng khô của mô xương sau xử lý cũng bị chiết rút rõ rệt lên đến 30,29 % so với trước xử lý ($p < 0,001$). Hình ảnh mô học và hình chụp dưới kính hiển vi điện tử quét cho thấy mô xương không chứa thành phần tế bào mà vẫn duy trì hình thái cấu trúc của khung ngoại bào. Như vậy quy trình khử hóa tế bào kết hợp khử khoáng trong nghiên cứu có tiềm năng chế tạo mô xương ghép từ xương bò cho ứng dụng tái tạo mô xương trong nha khoa.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 11/10/2024
Được duyệt 07/12/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa

axit formic, EDTA, HCl, khung ngoại bào, khử khoáng, khử tế bào, SDS, xương ghép dị loài

1 Đặt vấn đề

Phẫu thuật ghép xương là một phương pháp thường dùng để điều trị các khuyết hổng xương ở vùng hàm mặt. Xương ghép tự thân được xem là tiêu chuẩn vàng vì có những đặc tính cần thiết cho tái tạo xương gồm độ bền cơ học, tính tương hợp sinh học, dẫn tạo xương, kích tạo xương và thoái biến sinh học. Tuy nhiên, hạn chế của xương ghép tự thân chủ yếu liên quan đến quá trình lấy mảnh ghép, bao gồm đau, mất máu và nhiễm trùng tại vị trí lấy xương, kéo dài thời gian phẫu thuật, khối lượng xương lấy được không nhiều [1]. Khung xương khử khoáng (KXKK) là một loại vật liệu ghép giàu tiềm năng cho việc sửa chữa hoặc tái tạo mô xương trong thực hành nha khoa. KXKK đồng loài thương mại CGDBM100 giúp gia tăng thể tích xương khi nâng xoang hở trong phẫu thuật cấy ghép nha khoa nhờ

tác động tích cực lên sự hình thành mô xương mới và thao tác dễ dàng [2]. Ghép khung xương bò khử khoáng (Bovine-derived demineralized bone matrix - BDBBM) làm tăng thể tích xương ổ răng sau ghép sáu tháng tương tự như ghép mào xương chậu tự thân ở bệnh nhân bị khe hở môi - vòm miệng một bên [3]. Nghiên cứu tổng quan hệ thống gần đây cũng kết luận rằng xương đông khô khử khoáng có hiệu quả tương đương với các vật liệu ghép xương khác trong phẫu thuật nâng xoang và ghép xương, giúp giảm thiểu chi phí và hạn chế phẫu thuật lấy xương ghép tự thân [4].

KXKK là sản phẩm của quá trình xử lý mô xương ghép bằng dung dịch axit để loại bỏ các thành phần chất khoáng trong khi giữ lại khung ngoại bào (Extracellular matrix - ECM) cấu tạo bởi collagen, các protein không



collagen, các yếu tố sinh học có khả năng tạo xương như các protein hình thái xương và một phần nhỏ các mảnh vụn tế bào [5]. Thành phần tế bào còn sót lại có nguy cơ gây ra các phản ứng miễn dịch, ảnh hưởng đến tính an toàn và hiệu quả của mô ghép. Do đó KXKK cần phải được loại bỏ yếu tố tế bào để giảm nguy cơ gây phản ứng miễn dịch dẫn đến thải ghép [1].

Khử tế bào là kỹ thuật loại bỏ tế bào và các yếu tố gây phản ứng miễn dịch khỏi mô và cơ quan mà vẫn bảo tồn cấu trúc và các yếu tố sinh học bên trong ECM. Hiện nay, có ba phương pháp khử tế bào chính là vật lý, hóa học và sinh học [6]. Vì quy trình khử tế bào khỏi KXKK chưa được chuẩn hóa nên có thể dẫn đến sự khác biệt về chất lượng sản phẩm. Hơn nữa, các kỹ thuật thực hiện chủ yếu được báo cáo cho ứng dụng công nghệ mô xương nói chung, trong khi nghiên cứu về quy trình chế tạo vật liệu ghép tùy chỉnh, đáp ứng được đặc thù riêng cho từng lĩnh vực chuyên ngành còn hạn chế. Để phát triển BDMBM ứng dụng trong nha khoa tái tạo, cần tập trung vào nghiên cứu thiết lập và cải tiến quy trình xử lý mô xương, ứng dụng các công nghệ tiên tiến, đánh giá an toàn sinh học và thực hiện các nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng để kiểm chứng hiệu quả của sản phẩm. Trong nghiên cứu này, một quy trình khử tế bào bằng phương pháp hóa học (gọi tắt là khử hóa tế bào - KHTB) kết hợp khử khoáng (KHTB-KK) được thiết lập nhằm chế tạo BDMBM từ chỏm xương đùi bò. Đây là tiền đề để tạo ra các sản phẩm mô xương ghép dị loài mang lại hiệu quả tốt, chi phí hợp lý, đáp ứng nhu cầu điều trị các khuyết hổng xương trong thực hành nha khoa.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Chế tạo khung xương bò khử khoáng từ chỏm xương đùi bò

2.1.1 Thu nhận và chuẩn bị mẫu xương ban đầu

Mẫu xương ban đầu được thu nhận từ chỏm xương đùi tươi (không để quá sáu giờ ở nhiệt độ phòng) lấy từ bò tơ được 24 tháng tuổi tại lò mổ địa phương. Sau khi thu nhận, mẫu xương được làm sạch toàn bộ gân, mô mềm và ngâm trong dung dịch nước javen 10 % trong 15 phút để khử trùng ban đầu, sau đó rửa sạch bằng nước muối sinh lý vô trùng. Tiếp theo mẫu xương được cắt thành các khối xương có kích thước 20 mm × 10 mm × 10 mm (dài × rộng × cao), chứa cả phần xương vỏ và xương xốp. Các khối xương được chia ngẫu nhiên

thành hai nhóm, gồm nhóm BDMBM được xử lý bằng quy trình KHTB-KK (Hình 1) và nhóm chứng không được xử lý gì để làm mẫu đối chứng khi đánh giá sự thay đổi của mô xương.

2.1.2 Quy trình khử hóa tế bào kết hợp khử khoáng

Các khối xương trong nhóm BDMBM bắt đầu được KHTB bằng cách ngâm lần lượt trong các dung dịch với thể tích gấp 10 lần thể tích khối xương, gồm NaCl 1 M (Merck, USA) trong 18 giờ, hỗn hợp KCl 0,075 M (Merck, USA) và EDTA 0,1 % (Merck, USA) (tỷ lệ 1:1, v/v) trong 16 giờ, hỗn hợp sodium dodecyl sulfate (SDS) 0,5 % (Sigma, USA) và ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 0,1 % (Merck, USA) (tỷ lệ 1:1, v/v) trong 24 giờ. Các khối xương tiếp tục được khử khoáng bằng cách ngâm trong hỗn hợp dung dịch HCl 8 % (Merck, USA) và axit formic 8 % (Merck, USA) (tỷ lệ 1:1, v/v) với thể tích dung dịch gấp 20 lần thể tích khối xương trong 12 ngày. Hỗn hợp dung dịch khử khoáng được thay mới mỗi 24 giờ. Sau mỗi bước xử lý, các khối xương được rửa kỹ với dung dịch phosphate buffer saline (PBS) 1X (Gibco, USA) lạnh, vô trùng bằng cách quay ly tâm lạnh 200 vòng/phút trong 5 phút, lặp lại 3 lần nhằm làm sạch các hóa chất còn sót lại rồi để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Vào cuối quy trình, lượng axit dư còn lại trong các khối xương được trung hòa bằng dung dịch ammonia 5 % trong 15 phút, sau đó rửa lại bằng nước cất lạnh, vô trùng cho đến khi đạt giá trị pH ~ 7,0 và để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng.



Hình 1 Sau khi thu nhận và chuẩn bị mẫu xương ban đầu, các khối xương được xử lý bằng quy trình KHTB-KK. BDMBM có hình thái gần giống miếng bọt biển màu trắng, sạch, không có mô mềm hoặc mảnh vụn còn sót lại.

2.1.3 Đông lạnh, đông khô và khử trùng

BDMBM được đông lạnh lần lượt ở 4 °C trong 30 phút, -20 °C trong một giờ và -80 °C trong 24 giờ rồi tiếp tục được đông khô lạnh ở áp suất 0,4 mbar trong 48 giờ.

Sau đó BDMBM được đóng gói và khử trùng bằng tia gamma với liều chiếu 25 kGy ở 4 °C.

2.2 Đánh giá hiệu quả của quy trình khử hóa tế bào kết hợp khử khoáng

2.2.1 Đo trọng lượng khô

Trọng lượng khô của các khối xương được đo bằng cân phân tích AB204 (Mettler Toledo, USA). Các khối xương được khảo sát sau mỗi bước xử lý với các dung dịch khác nhau vào các ngày 1, 2, 3, 5, 6 và 15. Các khối xương chưa xử lý biểu thị ngày 0.

2.2.2 Phổ tán xạ năng lượng tia X (Energy-dispersive X-ray spectroscopy - EDX)

Phân tích hàm lượng canxi (Ca) và photpho (P) trong mô xương được thực hiện bằng thiết bị EMAX ENERGY EX-400 (Horiba, Japan) tại Trung tâm Thiết bị - Phân tích Sinh Hóa Lý, Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2.3 Đánh giá mô học

Tiêu bản mô học nhuộm Hematoxylin (Sigma, USA) và Eosin (Sigma, USA) cho mô xương được thực hiện

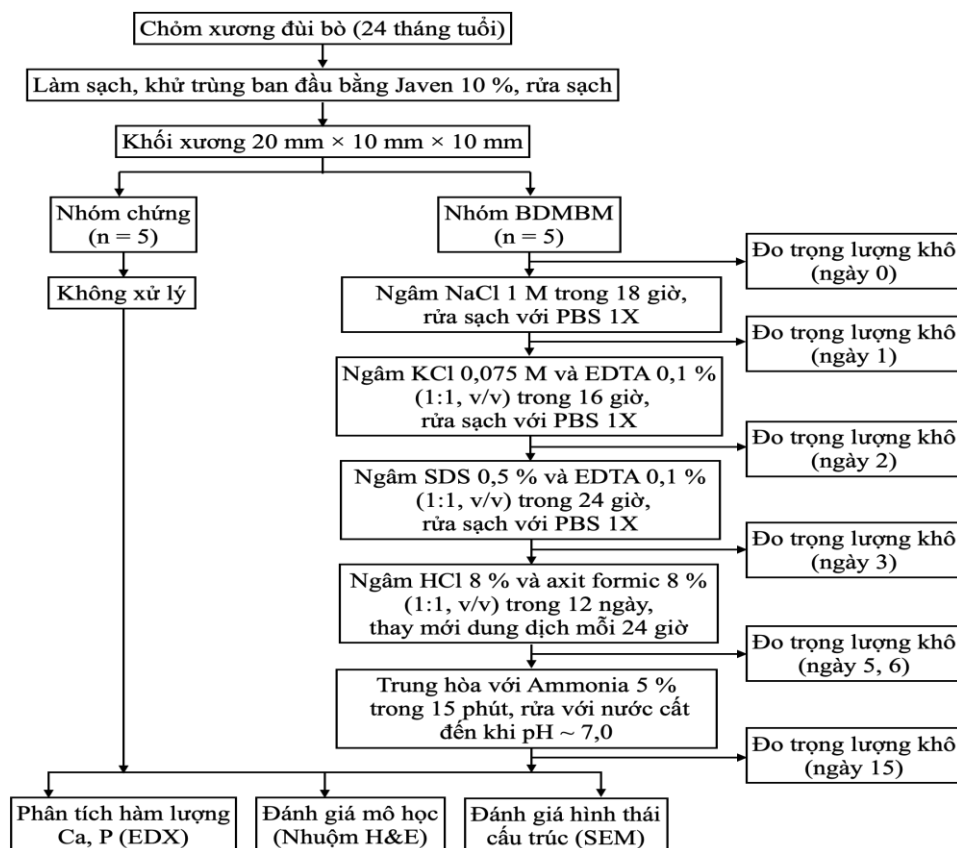
theo quy trình của phòng thí nghiệm Trung tâm Nghiên cứu Y sinh, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch. Hình ảnh mô học được chụp bằng kính hiển vi soi ngược Olympus IX73 (Japan).

2.2.4 Kính hiển vi điện tử quét (Scanning electron microscopy - SEM)

Hình thái cấu trúc của mô xương được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường SU 8010 (Hitachi, Japan) tại Viện Công nghệ Nano, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Quy trình chế tạo BDMBM từ chỏm xương đùi bò bằng quy trình KHTB-KK và các bước đánh giá hiệu quả của quy trình xử lý được minh họa trong Hình 2. Các thí nghiệm được thực hiện trên 5 mẫu độc lập với độ lặp lại 3 lần. Dữ liệu được thể hiện dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn và được phân tích thống kê bằng phần mềm Prism 10 (GraphPad Software, USA). Phép kiểm t được sử dụng để so sánh giữa hai nhóm nghiên cứu. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.



Hình 2 Sơ đồ tóm tắt các bước của quy trình KHTB-KK và đánh giá hiệu quả của quy trình xử lý để chế tạo BDMBM từ chỏm xương đùi bò.

Theo Hình 2, để đánh giá hiệu quả chiết rút chất khoáng, trọng lượng khô của các khối xương sau mỗi bước xử lý với các dung dịch khác nhau được đo vào các ngày 1, 2, 3, 5, 6 và 15 và so sánh với các khối xương chưa xử lý (ngày 0). Hàm lượng Ca và P trong mô xương trước và sau xử lý được phân tích định lượng bằng EDX. Để đánh giá hiệu quả khử tế bào, mô xương trước và sau xử lý được đánh giá mô học và khảo sát hình thái cấu trúc dưới SEM.

3 Kết quả

Bảng 1 Hàm lượng nguyên tố canxi và photpho trong mô xương trước và sau xử lý bằng quy trình KHTB-KK

Hàm lượng (%)	Nhóm chứng (n = 5)	Nhóm BDMBM (n = 5)	Giá trị p
Ca	15,76 ± 5,63	1,78 ± 1,29	< 0,001***
P	7,41 ± 1,81	0,77 ± 0,38	< 0,001***

Phép kiểm t so sánh hàm lượng Ca và P trung bình trong mô xương giữa nhóm chứng với nhóm BDMBM.

****: Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.*

Sự thay đổi trọng lượng khô của mô xương theo thời gian xử lý bằng quy trình KHTB-KK được trình bày trong Bảng 2. Trọng lượng khô của mô xương chưa xử lý là (3,07 ± 0,16) g. Trong ba ngày đầu tiên xử lý với các dung dịch khử tế bào, trọng lượng khô của mô xương lần lượt giảm xuống còn (3,06 ± 0,15) g, (3,02 ± 0,15) g và (3,03 ± 0,16) g nhưng không đáng kể (giá trị p lần lượt là 0,857, 0,562 và 0,701). Trọng lượng

3.1 Hiệu quả chiết rút chất khoáng

Kết quả phân tích định lượng thành phần chất khoáng trong mô xương bằng EDX được trình bày trong Bảng 1. Ở nhóm chứng, Ca chiếm 15,76 % và P chiếm 7,42 % khối lượng của mô xương. Ở nhóm BDMBM, Ca chỉ chiếm 1,78 % khối lượng và gần như không phát hiện được P (0,77 %) trong mô xương. Sự khác biệt giữa hai nhóm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Những kết quả này cho thấy quy trình KHTB-KK đạt hiệu quả cao trong việc chiết rút chất khoáng khỏi mô xương.

khô của mô xương thay đổi có ý nghĩa thống kê kể từ ngày thứ năm ($p < 0,001$) khi mô xương được khử khoáng bằng hỗn hợp HCl 8 % và axit formic 8 %, với trọng lượng bị chiết rút lên đến 30,29 % sau khi kết thúc quy trình vào ngày thứ 15 ($p < 0,001$). Những kết quả này gợi ý rằng khả năng chiết rút chất khoáng khỏi mô xương chủ yếu là nhờ sử dụng hỗn hợp dung dịch axit khử khoáng.

Bảng 2 Sự thay đổi trọng lượng khô của mô xương theo thời gian xử lý bằng quy trình KHTB-KK

n = 5	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 15
Trọng lượng khô (g)	3,07 ± 0,16	3,06 ± 0,15	3,02 ± 0,15	3,03 ± 0,16	2,46 ± 0,09	2,23 ± 0,08	2,14 ± 0,25
Trọng lượng bị chiết rút (%)	0	0,33	1,63	1,30	19,87	27,33	30,29
Giá trị p	-/-	0,857	0,562	0,701	< 0,001***	< 0,001***	< 0,001***

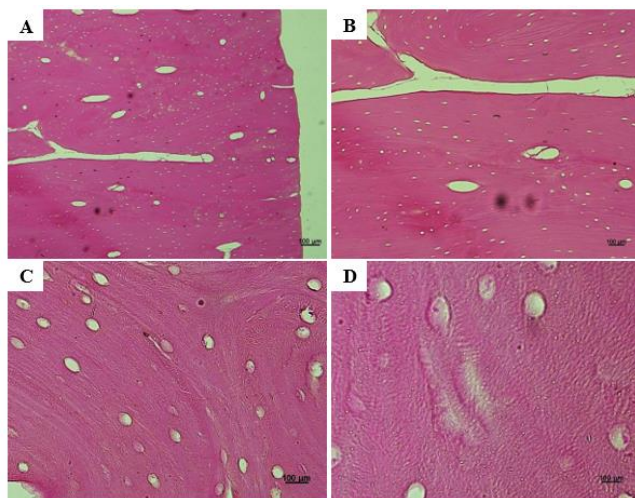
Phép kiểm t so sánh trọng lượng khô trung bình của mô xương vào các ngày 1, 2, 3, 5, 6 và 15 với ngày 0.

****: Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.*

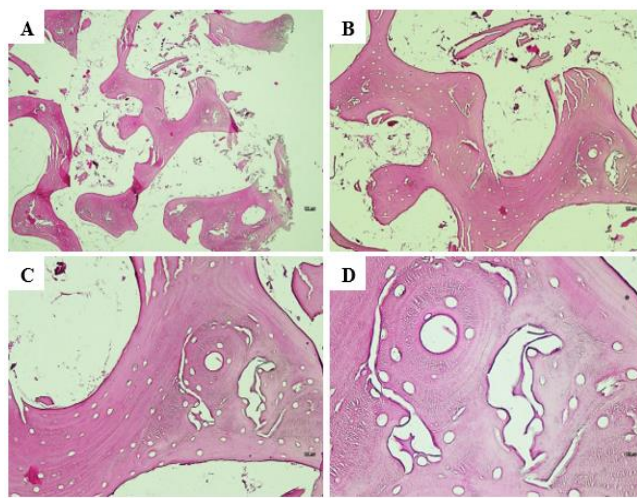
3.2 Đặc điểm mô học

Kết quả phân tích mô học của mô xương không xử lý (nhóm chứng) cho thấy cấu trúc mô xương ổn định và có một vài vết nhân tế bào (Hình 3). Ngược lại ở nhóm BDMBM, cấu trúc mô xương trở nên xốp, mỏng hơn

với nhiều bề xương nhỏ và không còn các vết nhân tế bào (Hình 4). Những kết quả này chỉ ra rằng các hóa chất có thể xâm nhập vào sâu bên trong mô xương để khử khoáng và loại bỏ các thành phần tế bào hiệu quả mà không làm phá hủy cấu trúc của mô.



Hình 3 Hình ảnh mô học của mô xương không xử lý (nhóm chứng) lần lượt chụp ở các vật kính (A) 4×, (B) 10×, (C) 20× và (D) 40× cho thấy cấu trúc mô xương ổn định và có một vài vết nhân tế bào.

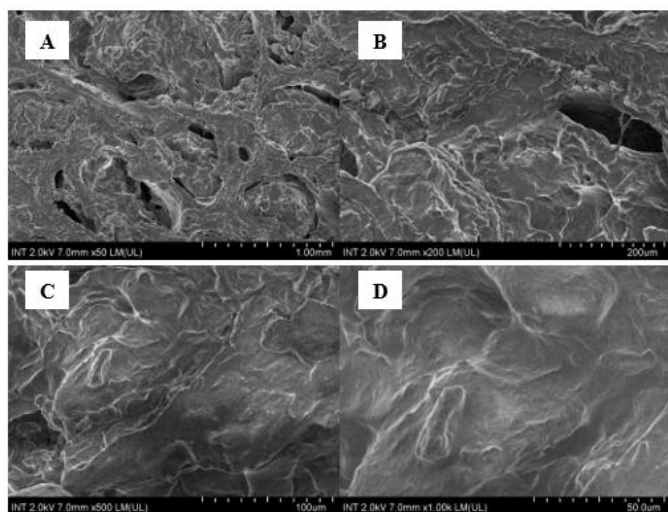


Hình 4 Hình ảnh mô học của mô xương xử lý bằng quy trình KHTB-KK (nhóm BDMBM) lần lượt chụp ở các vật kính (A) 4×, (B) 10×, (C) 20× và (D) 40× cho thấy cấu trúc mô xương xốp, mỏng hơn với nhiều bè xương nhỏ và không còn các vết nhân tế bào.

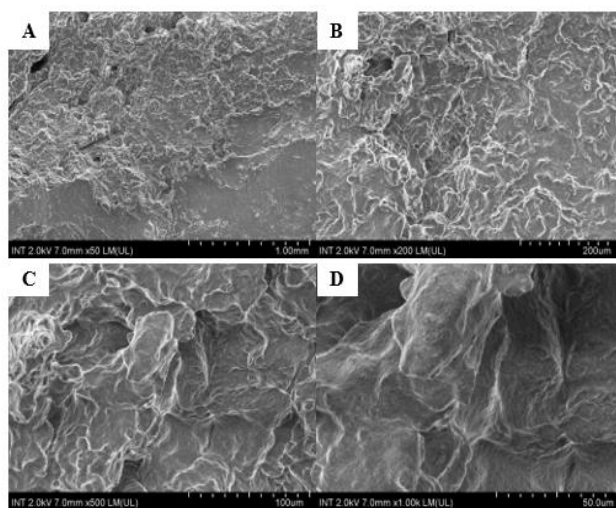
3.3 Hình thái cấu trúc

Kết quả khảo sát hình thái cấu trúc bằng SEM cho thấy cấu trúc không gian ba chiều xốp với mạng lưới liên kết chặt chẽ, dày đặc của mô xương không xử lý (nhóm chứng) (Hình 5). Trong khi đó mô xương ở nhóm

BDMBM cũng thể hiện cấu trúc không gian ba chiều xốp nhưng mỏng hơn và có chiều sâu hơn (Hình 6). Những kết quả này một lần nữa cho thấy ưu điểm của quy trình KHTB-KK là duy trì được tính toàn vẹn về mặt hình thái cấu trúc của mô xương.



Hình 5 Ảnh SEM của mô xương không xử lý (nhóm chứng) ở các độ phóng đại (A) 50×, (B) 200×, (C) 500× và (D) 1000× cho thấy cấu trúc không gian ba chiều xốp với mạng lưới liên kết chặt chẽ, dày đặc.



Hình 6 Ảnh SEM của mô xương xử lý bằng quy trình KHTB-KK (nhóm BDMBM) ở các độ phóng đại (A) 50×, (B) 200×, (C) 500× và (D) 1000× cho thấy cấu trúc không gian ba chiều xốp nhưng mỏng hơn và có chiều sâu hơn.

4 Thảo luận

Ngày càng nhiều nghiên cứu được thực hiện nhằm thiết lập một quy trình hiệu quả để khử tế bào trong ECM sử dụng làm vật liệu ghép xương. Một nghiên cứu công bố vào năm 2018 đã báo cáo quy trình khử tế bào của mô xương thu nhận từ xương đùi bệnh nhân bằng cách sử dụng HCl 0,6 N để khử khoáng rồi sử dụng kỹ thuật đông lạnh - rã đông kết hợp trypsin 0,25 % và SDS 2,5 % để khử tế bào [7]. Mặc dù kỹ thuật đông lạnh - rã đông giúp duy trì tính chất cơ học của ECM, nó không thể khử toàn bộ tế bào. Bên cạnh đó, hoạt động đặc hiệu của trypsin lên các peptide có thể phá hủy nghiêm trọng các protein trong ECM như elastin và collagen [6]. Như vậy quy trình khử tế bào cần cân bằng giữa việc loại bỏ hoàn toàn yếu tố tế bào và vật liệu di truyền với việc bảo tồn ECM, từ đó duy trì được cấu trúc ba chiều, đặc tính cơ học và hoạt động sinh học của mô xương tự nhiên. Một bài báo tổng quan gần đây chỉ ra rằng phương pháp hóa học có khả năng loại bỏ tế bào khỏi mô một cách nhanh chóng và hiệu quả. Ngoài ra, các hóa chất có thể được sử dụng kết hợp với nhau để đẩy nhanh quá trình khử tế bào [8]. Trong nghiên cứu này, quy trình KHTB được dựa trên nguyên lý tối ưu hóa tác dụng và giảm thiểu tác hại của hóa chất lên mô xương. Theo một báo cáo vào năm 2022 về quy trình sản xuất mô ghép sụn dị loại khử tế bào, quy trình sốc thẩm thấu bao gồm ngâm mẫu mô trong dung dịch ưu trương NaCl 1 M trong 18 giờ, sau đó ngâm trong dung dịch nước khử ion nhược trương trong 18 giờ đã được sử dụng để ly giải tế bào, giúp cải thiện hiệu quả khử tế bào [9]. Tương tự, quy trình KHTB cũng bắt đầu từ việc ly giải tế bào bằng cách ngâm mô xương trong dung dịch ưu trương NaCl 1 M trong 18 giờ rồi đến dung dịch nhược trương KCl 0,075 M trong 16 giờ, tạo thuận lợi cho các bước xử lý tiếp theo. Kỹ thuật khử tế bào bằng phương pháp hóa học hiện nay sử dụng ba nhóm tác nhân chính gồm chất tẩy rửa, axit-bazơ và chất chelat hóa. Trong số đó, chất tẩy rửa thường được sử dụng nhất vì phổ biến, rẻ tiền, nhanh chóng và hiệu quả [8]. SDS là một chất tẩy rửa phân cực có khả năng hòa tan màng bào tương và màng nhân, loại bỏ nhân tế bào và vật liệu di truyền, phá vỡ liên kết protein-protein. SDS còn có lợi thế loại bỏ hiệu quả vật liệu di truyền

trong thời gian ngắn hơn so với các hóa chất khác nên nó được dùng khá rộng rãi trong quy trình khử tế bào. Tuy nhiên, SDS có nguy cơ làm thay đổi cấu trúc vi mô của ECM, ảnh hưởng đến sự toàn vẹn của mô [6]. Một nghiên cứu so sánh thực nghiệm báo cáo rằng xử lý mô nhau thai lợn bằng SDS 0,5 % trong 24 giờ đem lại hiệu quả khử tế bào tốt hơn và giảm thiểu tổn thương mô nhiều hơn so với các nồng độ và các thời gian xử lý khác [10]. Dựa trên những bằng chứng khoa học hiện có, BDMBM trong nghiên cứu này đã được KHTB bằng SDS 0,5 % trong 24 giờ. Trong khi đó EDTA là một tác nhân chelat hóa có thể liên kết với các ion kim loại, góp phần gây phân tách tế bào. Nó thường được sử dụng kết hợp với DNase, RNase hoặc SDS để làm sạch mảnh vụn tế bào khỏi mô xương [6,8]. Cần lưu ý rằng dung dịch axit cũng có khả năng hòa tan màng tế bào và vật liệu trong nhân tế bào nhờ tính phân cực của nó. Ngoài ra, quá trình khử khoáng sẽ giúp loại bỏ các thành phần tế bào và vật liệu di truyền khỏi ECM tốt hơn nếu diễn ra sau quá trình khử tế bào [11]. Vì vậy trong nghiên cứu này, mô xương được KHTB rồi mới khử khoáng nhằm tối ưu hóa hiệu quả của các hóa chất. Trong công nghệ tái tạo mô xương, khung xương khử tế bào cho thấy nhiều tiềm năng vì có cấu trúc ba chiều, tính chất cơ học, tính dẫn tạo xương và kích tạo xương tương tự như mô xương tự nhiên [6]. Trong nghiên cứu này, quy trình KHTB đã loại bỏ hiệu quả các thành phần tế bào, đồng thời duy trì tính toàn vẹn cấu trúc của ECM, qua đó tạo thuận lợi cho hoạt động dẫn tạo xương. Điều này cũng rất quan trọng cho việc điều hòa hình thái tế bào và biểu hiện gen [12], điều hòa sự biệt hóa của tế bào gốc thành dòng tế bào tạo xương [13], góp phần vào hoạt động kích tạo xương. Những kết quả này khá tương đồng với một công bố trước đó, trong đó mô xương xộp thu nhận từ xương đùi bò được khử tế bào bằng dung dịch SDS và Triton X-100 1 %, khử khoáng bằng dung dịch HCl 37 % rồi thủy phân bằng dung dịch kiềm. Kết quả cho thấy nhân tế bào và vật liệu di truyền được loại bỏ hoàn toàn, vùng khoáng hóa chiếm từ 4,95 % đến 22,11 % và cấu trúc ECM được bảo tồn [14]. Tuy nhiên, các dung dịch kiềm được ghi nhận là làm giảm đáng kể hàm lượng các glycosaminoglycan, gây ảnh hưởng đến tính chất cơ

học của ECM nên hầu như không được sử dụng trong quy trình khử tế bào ở mô xương [8]. Nghiên cứu trên còn chỉ ra rằng mô xương thu được có đặc tính dẫn tạo xương và kích tạo xương [14]. So sánh khả năng thúc đẩy tái tạo xương tại các vị trí khuyết hổng xương sọ ở chuột cũng cho thấy cả xương bò khử khoáng và xương bò khử tế bào đều có tiềm năng tạo xương thuận lợi. Tuy nhiên xương khử tế bào thể hiện các đặc tính dẫn tạo xương, kích tạo xương và tạo xương vượt trội hơn đáng kể so với xương khử khoáng [15]. Mặt khác, một tổng quan y văn gần đây kết luận rằng đặc tính kích tạo xương của mô xương khử khoáng chịu ảnh hưởng rất nhiều bởi loại hóa chất khử khoáng. Dung dịch HCl (0,5-0,6) M cùng với hỗn hợp axit formic và axit citric (tỷ lệ 1:1, v/v) được báo cáo là tạo ra KXKK có đặc tính kích tạo xương đạt yêu cầu [16]. Xương không khử khoáng đồng loại được khử khoáng bằng HCl (0,5-0,6) N có khung hữu cơ nguyên vẹn, hàm lượng phần trăm khoáng canxi phosphat chiếm từ 1 % đến 6 % và chứa nhiều protein hình thái xương cần thiết cho sự tái tạo xương [5]. Tương tự, nghiên cứu này cũng cho thấy khả năng chiết rút chất khoáng khỏi mô xương lên đến gần 90 % của hỗn hợp HCl và axit formic. Tuy nhiên, nghiên cứu đã không khảo sát đặc tính kích tạo xương của BDMBM.

Tóm lại, quy trình KHTB-KK cho thấy tiềm năng chế tạo BDMBM ứng dụng trong nha khoa tái tạo. So với những quy trình khử tế bào đã báo cáo trước đó, quy trình KHTB khắc phục được nhược điểm của phương pháp vật lý là không thể khử toàn bộ tế bào cũng như những hạn chế của phương pháp sinh học như phá hủy các protein trong ECM hoặc gây ra phản ứng miễn dịch [6]. Hơn nữa quy trình chỉ sử dụng những hóa chất có sẵn, chi phí phải chăng, không đòi hỏi thiết bị phức tạp hoặc điều kiện kỹ thuật đặc biệt. Vì vậy quy trình cho thấy tiềm năng mở rộng trên quy mô sản xuất lớn hơn. Tuy nhiên, ứng dụng rộng rãi của SDS trong công nghiệp và đời sống có nguy cơ thải SDS quá mức vào môi trường, gây ảnh hưởng đến cả sinh vật lẫn môi trường, đặc biệt là môi trường đất và nước. Hiện nay loại bỏ SDS thông qua phục hồi sinh học đang được xem là một biện pháp hiệu quả để giảm thiểu tác động môi trường của chất tẩy rửa này [17]. Ngoài ra EDTA cũng là một hóa chất quan trọng trong quy trình KHTB. Vì

EDTA tan trong nước và không dễ bay hơi nên nó thường được thải ra môi trường cùng với nước thải. Mặc dù EDTA ít gây độc đối với con người và môi trường, vẫn có nhiều lo ngại về khả năng phân hủy sinh học kém của nó và tình trạng huy động các kim loại nặng từ pha rắn gây nguy cơ cho nước ngầm [18]. Do EDTA được xem là một chất gây ô nhiễm tồn tại dai dẳng trong môi trường nên việc xử lý và xả nước thải có chứa EDTA cần được kiểm soát một cách nghiêm ngặt. Nhìn chung khi sử dụng các hóa chất mạnh trong quy trình sản xuất, cần hướng đến mục tiêu bền vững thông qua việc đánh giá và lựa chọn hóa chất, tối ưu hóa quy trình, tuân thủ các quy định an toàn khi sử dụng hoá chất và xử lý chất thải, ứng dụng công nghệ xanh nhằm hạn chế tác động tiêu cực lên môi trường, sinh vật và con người đồng thời tăng cường hiệu quả sản xuất.

5 Kết luận và đề xuất

Nghiên cứu này đã bước đầu thiết lập thành công quy trình KHTB-KK để chế tạo BDMBM, hướng đến làm vật liệu ghép xương trong nha khoa tái tạo. Tuy nhiên, hiệu quả của quy trình có sự biến thiên theo nồng độ của hóa chất, thời gian xử lý và các đặc điểm của mô xương như nguồn gốc, độ tuổi, vị trí, thành phần. Do đó, cần từng bước hoàn thiện và chuẩn hóa quy trình trong các nghiên cứu thực nghiệm tiếp theo. Ngoài ra, trong điều kiện thí nghiệm hiện tại, khung xương thành phẩm có thể được xem là một vật liệu tương hợp sinh học và tương thích miễn dịch, giúp hỗ trợ các cơ chế dẫn tạo xương và kích tạo xương. Bên cạnh đó, các tính chất cơ học của BDMBM như kích thước lỗ liên thông, độ bền nén, độ biến dạng và độ chịu lực cũng như các tiêu chuẩn sinh học như độ vô khuẩn, độ gây độc tế bào và độ an toàn tế bào cũng cần được phân tích. Tất cả những đặc tính này sẽ được đánh giá trong các nghiên cứu tiếp theo. Cần lưu ý rằng sự chuyển dịch từ kết quả nghiên cứu sang ứng dụng lâm sàng là một quá trình lâu dài và phức tạp, cần được kiểm chứng qua hàng loạt các thí nghiệm, nghiên cứu tiền lâm sàng và thử nghiệm lâm sàng dưới nhiều điều kiện khác nhau. Hơn nữa, quy trình được đề xuất từ nghiên cứu phải được điều chỉnh để phù hợp với tình hình thực tế như cơ sở hạ tầng, tài nguyên và nhân lực trước khi triển khai trên quy mô lớn hơn.

Lời cảm ơn Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, đề tài mã số 2024.01.42/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. V.A. Georgeanu, O. Gingu, I.V. Antoniac, H.O. Manolea. (2023). Current options and future perspectives on bone graft and biomaterials substitutes for bone repair, from clinical needs to advanced biomaterials research. *Applied Sciences*, 13, 8471.
2. Trần Xuân Thắng, Lê Đức Lánh. (2015). Đánh giá hiệu quả sử dụng xương khủ khoáng CGDBM100 để nâng xoang hở đồng thời đặt implant nha khoa. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 19, 303.
3. V. Kumar, V. Rattan, S. Rai, S.P. Singh, J.K. Mahajan. (2022). Comparative assessment of autogenous cancellous bone graft and bovine-derived demineralized bone matrix for secondary alveolar bone grafting in patients with unilateral cleft lip and palate. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 59, 833.
4. Phan Huy Hoàng, Nguyễn Phú Thắng, Đàm Văn Việt, Bùi Tiến Đạt. (2022). Tổng quan hệ thống về can thiệp nâng xoang cửa sổ bên có ghép xương trong cây ghép implant nha khoa. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 519, 345.
5. E. Gruskin, B.A. Doll, F.W. Futrell, J.P. Schmitz, J.O. Hollinger. (2012). Demineralized bone matrix in bone repair: History and use. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 1063.
6. H. Amirazad, M. Dadashpour, N. Zarghami. (2022). Application of decellularized bone matrix as a bioscaffold in bone tissue engineering. *Journal of Biological Engineering*, 16, 1.
7. E. Abedin, R. Lari, N.M. Shahri, M. Fereidoni. (2018). Development of a demineralized and decellularized human epiphyseal bone scaffold for tissue engineering: A histological study. *Tissue & Cell*, 55, 46.
8. D. Moffat, K. Ye, S. Jin. (2022). Decellularization for the retention of tissue niches. *Journal of Tissue Engineering*, 13, 20417314221101151.
9. N.A. Vernice, N. Berri, R.J. Bender, X. Dong, J.A. Spector. (2022). Production of a low-cost, off-the-shelf, decellularized cartilage xenograft for tissue regeneration. *Annals of Plastic Surgery*, 88, S296.
10. J.H. Son, D.J. Kim, D.M. Lee, B.B. Seo. (2021). Establishment of optimal decellularization conditions using porcine placenta. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 36, 253.
11. A. Al Qabbani, K.G.A. Rani, J. Syarif, S. AlKawas, S. Sheikh Abdul Hamid, A.R. Samsudin, A. Azlina. (2023). Evaluation of decellularization process for developing osteogenic bovine cancellous bone scaffolds in-vitro. *PloS One*, 18, e0283922.
12. E.K.F. Yim, S.W. Pang, K.W. Leong. (2007). Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage. *Experimental Cell Research*, 313, 1820.
13. M.J. Dalby, N. Gadegaard, R. Tare, A. Andar, M.O. Riehle, P. Herzyk, C.D. Wilkinson, R.O. Oreffo. (2007). The control of human mesenchymal cell differentiation using nanoscale symmetry and disorder. *Nature Materials*, 6, 997.
14. A. Malagón-Escandón, M. Hautefeuille, E. Jimenez-Díaz, J. Arenas-Alatorre, J.M. Saniger, I. Badillo-Ramírez, N. Vazquez, G. Piñón-Zarate, A. Castell-Rodríguez. (2021). Three-dimensional porous scaffolds derived from bovine cancellous bone matrix promote osteoinduction, osteoconduction, and osteogenesis. *Polymers*, 13, 4390.
15. A. Al Qabbani, K.G.A. Rani, S. AlKawas, S. Sheikh Abdul Hamid, A. Yap Abdullah, A.R. Samsudin, A. Azlina (2023). Evaluation of the osteogenic potential of demineralized and decellularized bovine bone granules following implantation in rat calvaria critical-size defect model. *PloS One*, 18, e0294291.

16. M. Ciszynski, S. Dominiak, M. Dominiak, T. Gedrange, J. Hadzik. (2023). Allogenic bone graft in dentistry: A review of current trends and developments. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 16598.
17. F.H. Muhamad, S.A. Ahmad, N.A. Yasid. (2017). Biodegradation of sodium dodecyl sulfate: A mini review. *Journal of Environmental Microbiology and Toxicology*, 5, 7.
18. C. Oviedo, J. Rodríguez (2003). EDTA: the chelating agent under environmental scrutiny. *Química Nova*, 26, 6.

Establishment of a decellularization combined demineralization process to fabricate bovine-derived xenografts for regenerative dentistry

Vo Thi Thuy Tien^{1,*}, Nguyen Khanh Hoa², Huynh Duy Thao²

¹Faculty of Dentistry, Nguyen Tat Thanh University

²Faculty of Basic Medical Science, Pham Ngoc Thach University of Medicine

*vtttien@ntt.edu.vn

Abstract Elimination of the immune response elicited by grafting remains a challenge for the fabrication of non-autologous bone grafts. The aim of this study was to assess the effectiveness of a decellularization-combined demineralization process to produce bovine-derived demineralized bone matrix (BDBBM) for regenerative dentistry. Bone tissues were harvested from bovine femoral heads, cleaned, and disinfected. The tissues were then decellularized by sequentially soaking in 1 M NaCl, a mixture of 0.075 M KCl and 0.1 % EDTA (1:1, v/v), and a mixture of 0.5 % SDS and 0.1 % EDTA (1:1, v/v). They were further demineralized using a mixture of 8 % HCl and 8 % formic acid (1:1, v/v). The energy-dispersive X-ray spectroscopy found that the contents of calcium and phosphorus in the bone tissues after treatment were significantly reduced by nearly 90 % compared to before treatment ($p < 0.001$). The dry weight of bone tissues also showed a significant weight loss of up to 30.29 % at the end of process compared to the beginning ($p < 0.001$). The analysis of histological morphology and structural topography under scanning electron microscopy indicated that BDBBM contained no cellular components while maintaining the structure of the extracellular matrix. In conclusion, the decellularization-combined demineralization process used in this study may offer promising method to fabricate BDBBM for bone regeneration applications in dentistry.

Keywords formic acid, EDTA, HCl, extracellular matrix, demineralization, decellularization, SDS, xenograft

Xây dựng công thức gel bôi da chứa cao chiết nước lá Trầu không (*Piper betle* L. Piperaceae)

Phan Thị Thanh Thủy^{1*}, Phan Minh Hoàng², Lê Bảo Oanh¹

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

*ptthuy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Do chứa nhiều hoạt chất kháng khuẩn, kháng nấm và kháng viêm, Trầu không được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền. Công thức bào chế gel đã được xây dựng với thành phần cao chiết nước lá Trầu không có hoạt tính kháng khuẩn với tá dược tạo gel Na CMC. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng phương pháp đĩa giấy khuếch tán theo quy định của CLSI. Công thức gel đạt chỉ tiêu chất lượng sản phẩm về cảm quan với thể chất mềm mịn, màu vàng nâu, trong suốt, mùi đặc trưng của Trầu, độ pH = (6,02 ± 0,03). Gel có độ đồng nhất không có hiện tượng vón cục, không có kết tủa không tan, độ dày mỏng 38,50 cm², gel có độ ổn định qua đánh giá theo chu kỳ nóng lạnh. Hoạt tính kháng vi sinh vật cho thấy chế phẩm kháng được 5 chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*, Methicillin - susceptible *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*.

Nhận 13/09/2024
Được duyệt 27/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
gel, kháng khuẩn,
Na CMC, *Piper betle*,
Trầu không

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Hiện nay, người tiêu dùng có xu hướng sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên, an toàn, giảm thiểu các thành phần hóa tổng hợp. Việt Nam có nguồn dược liệu phong phú, trong đó có Trầu không (*Piper betle* L. Piperaceae), thuộc họ Hồ tiêu (Piperaceae) [1]. Lá Trầu không (TK) vị cay nồng, mùi thơm hắc, tính ấm, trong thành phần chứa các hợp chất phenolic, hydroxychavicol,... có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, chống oxy hóa, ức chế enzym α -glucosidase,... là tiền đề để cho ra đời và phát triển các loại thuốc chiết xuất từ lá TK [2, 3]. Hơn nữa, TK cũng đã được ghi nhận là an toàn khi sử dụng [4]. Với tác dụng sinh học mạnh nhưng an toàn của lá TK, các chế phẩm từ lá TK đã được nghiên cứu bào chế: gel Trầu

xanh Dekokta (*Piper betle* L.) điều trị thay thế cho bệnh viêm vú bò, lotion dưỡng da chiết xuất từ lá TK (*Piper betle*), chế phẩm mặt nạ dịch chiết còn lá TK, mặt nạ lột từ cao chiết ethanol lá TK, sử dụng PVA ở hàm lượng 14 % làm tá dược tạo màng, chế phẩm nhũ tương nano từ tinh dầu lá TK ứng dụng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính ở tôm [5-9].

Một số dạng bào chế được phát triển nhằm mục đích tạo ra chế phẩm hỗ trợ, điều trị tình trạng viêm nhiễm da do vi khuẩn, vi nấm như gel, hỗn dịch, nhũ tương, thuốc mỡ [10, 11]. Dạng bào chế gel bôi da có khả năng thẩm trực tiếp vào da để bảo vệ, hồi phục da, tạo cảm giác thoải mái khi sử dụng. Một trong những tá dược tạo gel được sử dụng phổ biến là natri carboxymethylcellulose (Na CMC) nhờ đặc tính làm ổn

định nhũ tương, tăng độ nhớt, chất kết dính, hấp thụ dịch tiết, nước, mồ hôi và hỗ trợ hoạt chất thấm vào biểu bì [12].

Thị trường trong nước vẫn chưa có chế phẩm gel bôi da kháng khuẩn chứa dịch chiết nước TK. Do đó, nhằm đa dạng hơn các chế phẩm từ lá TK, đồng thời tận dụng được nguồn dược liệu có sẵn trong tự nhiên, kết hợp nhu cầu sử dụng các sản phẩm từ thiên nhiên trong điều trị bệnh, nghiên cứu này xây dựng công thức điều chế gel bôi da từ dịch chiết lá TK có tác dụng kháng khuẩn hỗ trợ điều trị bệnh, chăm sóc da.

2 Nguyên vật liệu và phương pháp

2.1 Nguyên liệu

Lá TK tươi chọn loại bánh tẻ, không bị sâu bệnh hay dập úng thu hái tại Bà Điểm – Hóc Môn, TP. Hồ Chí Minh. TK (*Piper betle*) là một loài cây mọc leo, thân nhẵn. Cành hình trụ, nhẵn, có khía dọc, bẻ gãy ở các mấu. Cây có thể phát triển mạnh mẽ lên đến chiều cao 20 m, đường kính gốc lớn từ (15-20) cm. Lá đơn mọc so le, cuống lá có bẹ dài khoảng (1,5-3,5) cm, phiến lá hình trứng thuôn dài rộng, lá có lông mịn dài (10-13) cm, rộng (4,5-9) cm, hai mặt lá nhẵn, mặt trên sẫm bóng, gân giữa nổi rất rõ ở mặt dưới; cuống lá có bẹ kéo dài, phía cuống hình tim (đối với những lá phiến gốc) đầu lá nhọn, khi soi lên thấy rất nhiều điểm chứa tinh dầu thơm rất nhỏ, gân lá thường 5, lá bắc tròn và hình trái xoan.



Hình 1 Hình thái hai mặt của lá TK

Bảng 1 Bảng công thức điều chế [7]

Thành phần (%)	Vai trò	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)	C1 (%)	C2 (%)	C3 (%)
Cao chiết	Hoạt chất	2	2	2	2	2	2
Gôm arabica	Tá dược tạo gel	10	15	20	-	-	-
Na CMC	Tá dược tạo gel	-	-	-	0,25	0,5	1
PEG 400	Chất kết dính	3	3	3	3	3	3
Nipagin M/ethanol 70 %	Chất bảo quản	1	1	1	1	1	1

Cao chiết nước lá TK được chiết bằng phương pháp đun hồi lưu theo quy trình [13]. Lá TK được rửa sạch với nước, cắt nhỏ (2-3) cm, mỗi lô gồm 200 g dược liệu lá TK, đun sôi hồi lưu 100 °C với 1 lít nước cất (tỉ lệ khối lượng TK:thể tích nước là 1:5 trong 3 giờ), thu dịch chiết, lọc qua giấy lọc. Dịch lọc được cô bằng máy cô quay. Cao TK thu được hút ẩm đến khối lượng không đổi trước khi xác định khối lượng.

Định danh nguyên liệu bằng mô tả thực vật học và so sánh với tài liệu tham khảo [14].

Hóa chất: natri carboxymethylcellulose (Na CMC); polyethylene Glycol (PEG 400); nipagin M; gôm arabic; các hóa chất, nguyên liệu khác đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Thiết bị: bếp cách thủy Memmertmm WNB14 (Germany), bếp khuấy từ Velp Scientifica (Italia), máy cô quay Heidolph Hei-VAP Value Digital (Germany), tủ sấy Memmertmm (Germany), máy lắc Vortex Velp TX4 (Italia), bể siêu âm Power Sonic 404 (Korea), cân phân tích 4 số Metler Toledo (USA), máy đo pH Mettler Toledo GmbH (USA), máy hút chân không ROCKET 4000 (Taiwan), nồi hấp tiệt trùng Hirayama HV 110 (Japan), tủ cấy vi sinh ESCO (Singapore), tủ ẩm Memmertmm (Germany), đĩa petri Φ 90 mm (Germany), và các dụng cụ thủy tinh thông thường sử dụng trong phòng thí nghiệm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Khảo sát và chọn ra tá dược tạo gel phù hợp trong công thức

Tiến hành khảo sát dựa trên nghiên cứu ở TLTK [7]. Gôm arabic và Na CMC được khảo sát ở các nồng độ khác nhau để chọn ra tá dược tạo gel trong công thức. Quá trình thực hiện với 6 công thức ở các nồng độ khác nhau (Bảng 1).

Tinh dầu hoa Hồng	Chất khử mùi	1	1	1	1	1	1
Nước cất	Dung môi (vừa đủ)	100	100	100	100	100	100

Chú thích: G1, G2, G3: các công thức chứa gồm arabic; C1, C2, C3 : các công thức chứa Na CMC

Tiến hành: ngâm chất tạo gel với 50 mL nước cất cho trương nở hoàn toàn, khuấy đều cho đến khi hỗn hợp đồng nhất (1). Thêm thành phần PEG 400 vào, sau đó cho nipagin M/ ethanol 70 % vào, khuấy đều tạo thành dung dịch (2). Hòa tan cao chiết với nước cất ở các nồng độ khác nhau (3). Cho dung dịch (2) vào (3), khuấy đều đến khi hỗn hợp đồng nhất (4). Cho từ từ (4) vào (1) sau đó bổ sung nước cất vừa đủ đến khối lượng 100 g. Khuấy đều cho đến khi thu được gel đồng nhất. Tiến hành quan sát cảm quan và đánh giá để chọn ra tá được tạo gel phù hợp.

Yêu cầu cảm quan: gel thể chất mềm mịn, đồng nhất, mùi đặc trưng, không biến màu, không cứng lại, không tách lớp hay phân tầng ở nhiệt độ thường, không nổi/lắng cặn, không được chảy lỏng ở 37 °C, phải bắt dính được trên da khi bôi.

2.2.2 Khảo sát nồng độ chất bảo quản nipagin M

Nipagin M thường được dùng với vai trò là chất bảo quản cho các chế phẩm ngoài da với nồng độ là (0,02-0,3) % [12]. Do nồng độ methylparaben dùng trong thuốc bôi ngoài da là (0,02-0,3) %, nghiên cứu tiến hành khảo sát nồng độ nipagin M trong công thức với các nồng độ là (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; và 0,3) % [12]. Yêu cầu: dựa trên quan sát cảm quan ở điều kiện bảo quản thường trong vòng 30 ngày chọn ra mẫu gel có thể chất phù hợp với nồng độ chất bảo quản được dùng thấp nhưng vẫn giữ được độ ổn định của gel.

2.2.3 Đánh giá chất lượng công thức gel F4 thành phẩm
Đánh giá cảm quan: lấy 1 g chất thử cho lên trên mặt kính phiến kính không màu rồi quan sát [15]. Công thức gel F4 được đối chiếu về mặt cảm quan với mẫu chuẩn là sản phẩm gel thương mại X trên thị trường sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở. Quan sát những thay đổi về thể chất, màu sắc và mùi của chế phẩm xảy ra trong 30 ngày [6].

Đánh giá độ pH: cân 1 g gel cho vào 10 mL nước cất, khuấy kỹ, lọc qua giấy lọc và tiến hành đo pH dịch lọc bằng máy đo pH trong thời gian 30 ngày. Đo 3 lần lấy giá trị trung bình [16].

Yêu cầu: pH có giá trị phù hợp với sinh lý da (~4,5-6,5) [17, 18].

Đánh giá độ đồng nhất: lấy khoảng (0,02-0,03) g mẫu gel, trải đều trên phiến kính. Đẩy lên phiến kính bằng một phiến kính thứ hai và ép mạnh cho đến khi tạo thành vết tròn có đường kính khoảng 2 cm. Quan sát vết thu được bằng mắt thường với khoảng cách 30 cm. Yêu cầu: trong tiêu bản không được nhận thấy các cấu tử lạ, không vón cục, không xuất hiện kết tủa không tan [15].

Đánh giá độ đàn mỏng

Chuẩn bị 2 tấm kính 15 cm × 15 cm. Cân 0,5 g gel cho vào tấm kính thứ nhất. Đặt tấm kính thứ hai lên, để yên 1 phút, đo đường kính (d) do gel tán ra (đo hai chiều, lấy giá trị trung bình). Các công thức được để yên trong khoảng 5 phút để ổn định, sau đó gel này sẽ được ép bởi 1 tấm kính khác bởi vật nặng 150 g trong vòng 5 phút đến khi dàn mỏng hoàn toàn, không thay đổi. Đường kính gel trước khi ép và sau khi ép được đo và ghi lại. Khả năng dàn mỏng tốt của chế phẩm từ 5 cm đến 7 cm [18]. Tiến hành so sánh với chế phẩm thương mại gel X.

Tính diện tích dàn mỏng theo công thức:

$$S = \pi d^2 / 4$$

Trong đó:

S: diện tích vùng dàn mỏng (cm²)

d: đường kính trung bình vùng dàn mỏng (cm)

Đánh giá độ ổn định

Chu kỳ nóng lạnh: gel được lưu trữ lần lượt ở nhiệt độ (4 ± 1) °C trong 24 giờ, tiếp theo ở nhiệt độ (50 ± 1) °C trong 24 giờ, sau đó đặt ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ. Các chu kỳ được tiến hành liên tục, thực hiện 6 chu kỳ. Sau mỗi chu kỳ, mẫu thử được kiểm tra về cảm quan, giá trị pH, độ đồng nhất.

Yêu cầu: mẫu gel đạt độ ổn định khi không có thay đổi nào về cảm quan, thể chất gel, mùi đặc trưng, giá trị pH, độ đồng nhất sau 6 chu kỳ, giá trị pH phù hợp với sinh lý da, đạt yêu cầu về độ đồng nhất [11].

2.2.4 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp đĩa giấy khuếch tán

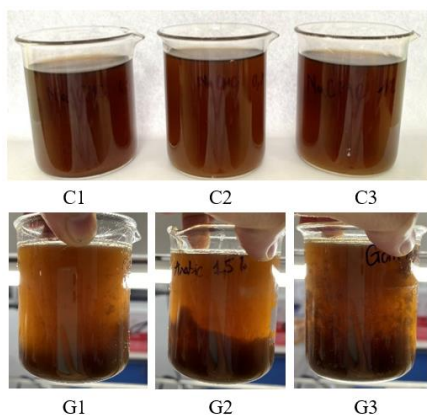
Chế phẩm được tiến hành thử nghiệm kháng khuẩn với các chủng vi khuẩn *Escherichia coli* (ATCC 25922), Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (ATCC 33591), Methicillin – susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (ATCC 25923), *Propionibacterium acnes* (ATCC 11827), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Streptococcus faecalis* (ATCC 29212), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 41119) theo phương pháp đĩa giấy khuếch tán được quy định tại hướng dẫn M02-A11 của CLSI [19]. Chứng dương là amikacin 10 µg, chứng âm 1 là đĩa giấy đường kính 6 mm được tẩm với các tá dược trong công thức, chứng âm 2 là đĩa giấy đường kính 6 mm được tẩm với các tá dược trong công thức nhưng không chứa nipagin.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Xây dựng công thức gel bôi da chiết xuất từ dịch chiết nước lá TK

3.1.1 Kết quả khảo sát và chọn tá dược tạo gel

Công thức G1, G2, G3 sau khi để qua (12-24) giờ có hiện tượng không đồng nhất, lắng cặn nhiều ở đáy cốc và xuất hiện một số cặn nổi trên bề mặt. Do đó, công thức không đạt yêu cầu về cảm quan. Công thức C1, C2, C3 không có hiện tượng lắng cặn, phân tầng, tách lớp ở điều kiện thường, thể chất đẹp, đồng nhất, mùi thơm và màu sắc đồng đều, trong suốt (Hình 1).



Hình 2 Quan sát cảm quan của công thức C1, C2, C3, G1, G2, G3

Vì vậy, lựa chọn tá dược tạo gel là Na CMC để tiếp tục khảo sát ở các nồng độ khác nhau nhằm chọn ra nồng

độ tạo gel phù hợp trong công thức. Kết quả khảo sát thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2 Bảng khảo sát nồng độ chất tạo gel trong khoảng từ 1,5 % đến 4,5 %

Nồng độ chất tạo gel (%)	Quan sát cảm quan về thể chất gel
1,5	C ⁺⁺⁺ , chưa tạo gel
2	C ⁺⁺ , gel lỏng
2,5	C ⁺ , *, tạo được gel tốt nhưng dễ chảy lỏng
3	C [*] , tạo gel tốt
3,5	C ⁻ , gel đặc
4	C ⁻ , gel quá đặc
4,5	C ⁻ , gel quá đặc

Chú thích:

C: Độ lỏng của gel

+, ++, +++: Độ lỏng của gel tăng dần.

-, -, -: Độ đặc của gel tăng dần.

*: Khả năng tạo gel tốt.

Nồng độ 2,5 % và 3 % quan sát cảm quan thấy thể chất gel đẹp, đồng nhất. Chúng tôi tiếp tục tiến hành khảo sát nồng độ Na CMC ở khoảng nhỏ hơn trong phạm vi từ 2,6 % đến 3,2 % thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3 Bảng khảo sát nồng độ chất tạo gel trong khoảng từ 2,6 % đến 3,2 %

Nồng độ chất tạo gel (%)	Quan sát cảm quan về thể chất gel
2,6	C ⁺⁺⁺ , gel dễ bị chảy lỏng
2,7	C ⁺⁺ , gel dễ bị chảy lỏng
2,8	C ⁺ , gel bị chảy lỏng ít
2,9	C ⁺ , *, gel có thể chất đẹp, hơi chảy lỏng
3	C [*] , gel tốt, thể chất đẹp
3,1	C ⁻ , gel tốt nhưng hơi đặc
3,2	C ⁻ , gel tốt nhưng hơi đặc

Chú thích:

C: độ lỏng của gel

+, ++, +++ : độ lỏng của gel tăng dần.

-, - : độ đặc của gel tăng dần.

*: độ tạo gel tốt.

Kết quả cho thấy nồng độ 3 % tạo gel tốt, thể chất đẹp, đồng nhất, trong suốt nên Na CMC 3 % là nồng độ tạo gel trong công thức.

3.1.2 Kết quả khảo sát chất bảo quản nipagin M

Kết quả khảo sát gel chứa thành phần nipagin M tại các nồng độ khác nhau trong thời gian 30 ngày quan sát cho thấy: Nồng độ (0-0,1) % đều có hiện tượng đục, có lớp màng trắng trong gel chứng tỏ có vi sinh vật phát triển; Nồng độ (0,15; 0,2; 0,2; và 0,3) % thể chất gel đẹp, trong suốt và không có bất kỳ sự biến đổi nào.

Do đó, chúng tôi chọn nồng độ chất bảo quản trong công thức là 0,15 % với nồng độ chất bảo quản được dùng là thấp nhưng vẫn giữ được thể chất gel ổn định.

3.1.3 Công thức gel

Thực hiện điều chế gel theo công thức được ghi ở Bảng 4.

Bảng 4 Công thức gel bôi da chứa dịch chiết nước TK

Thành phần (% kl/ kl)	Vai trò trong công thức	Hàm lượng (%)
Cao chiết	Hoạt chất	2
Na CMC	Chất tạo gel	3
PEG 400	Chất kết dính	3
Nipagin M/ ethanol 70 %	Chất bảo quản	0,15
Nước cất	Dung môi (vừa đủ)	100

Các bước tiến hành pha chế công thức:

- Dụng cụ rửa sạch, tráng nước cất, lau khô.
- Ngâm 3 g Na CMC với khoảng 50 mL nước cất nóng (80-90) °C trong 3 giờ cho trương nở hoàn toàn, khuấy đều cho đến khi hỗn hợp đồng nhất để tạo gel (1).
- Cân 3 g PEG 400 vào cốc 50 mL, sau đó hút 3,75 mL dung dịch nipagin M nồng độ 4 % vào, khuấy đều (2).

Bảng 5 Kết quả đo pH của chế phẩm gel

Gel	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 6	Ngày 9	Ngày 12	Ngày 15	Ngày 18	Ngày 21	Ngày 24	Ngày 27	Ngày 30	TB
Gel F4 2 %	6,19	6,15	6,10	6,13	6,06	6,10	6,01	6,05	5,84	5,84	5,81	6,02
Gel X	5,39	5,37	5,36	5,32	5,31	5,30	5,28	5,28	5,26	5,26	5,22	5,3

Ghi chú: TB là giá trị trung bình

Kết luận: kết quả đo độ pH của chế phẩm sau 30 ngày cho công thức gel có giá trị pH trung bình 6,02 phù hợp với pH của da thay đổi từ 4,5-6,5 có thể dùng trên da [17].

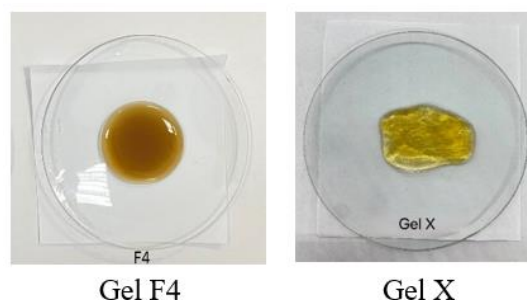
3.2.3 Đánh giá độ đồng nhất

- Hòa tan 2 g cao TK với 20 mL nước cất trong cốc có mỏ (3).
- Cho (2) vào (3), khuấy đều đến khi dung dịch đồng nhất (4).
- Cho từ từ (4) vào (1) sau đó bổ sung nước cất vừa đủ đến khối lượng 100 g. Khuấy đều cho đến khi thu được gel đồng nhất.
- Sau khi thu được sản phẩm gel, tiến hành đánh giá chất lượng của sản phẩm với các thông số về độ cảm quan, độ pH, độ đồng nhất, độ đàn mỏng, độ ổn định sơ bộ, hoạt tính kháng khuẩn.

3.2 Kết quả đánh giá chất lượng công thức gel thành phẩm

3.2.1 Đánh giá cảm quan

Công thức gel có thể chất mềm mịn, đồng nhất, màu vàng nhạt đến màu nâu tương ứng với nồng độ cao TK trong chế phẩm, có mùi đặc trưng của TK, không biến màu, không tách lớp ở nhiệt độ thường, không chảy lỏng ở 37 °C, bắt dính được trên da và có cảm giác mát khi bôi lên da (Hình 2). Trong 30 ngày quan sát nhận thấy, chế phẩm vẫn giữ được thể chất mềm mịn, đồng nhất, không tách lớp, không bị chảy lỏng. Màu sắc, mùi của chế phẩm không thay đổi trong quá trình bảo quản. Thành phẩm gel đạt yêu cầu cảm quan.



Hình 3 Thử nghiệm xác định thể chất, màu sắc, mùi.

3.2.2 Đánh giá độ pH

Kết quả đo được trình bày trong Bảng 5.



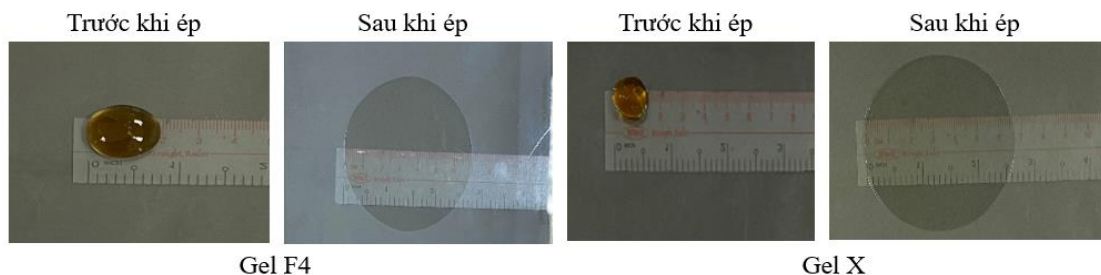
Hình 4 Kết quả thử độ đồng nhất

Gel đồng nhất, không vón cục, không có cấu tử lạ, không có kết tủa không tan. Sau khi ép trên phiến kính và quan sát vết thu được bằng mắt thường, nhận thấy ở

tiêu bản không có hiện tượng vón cục, không có kết tủa không tan. Thành phẩm gel đạt độ đồng nhất.

3.2.4 Đánh giá độ đàn mỏng

Tiến hành thử nghiệm 3 lần, lấy giá trị trung bình.



Hình 5 Kết quả độ đàn mỏng

Công thức gel có độ đàn mỏng tốt với diện tích sau khi ép trung bình là $38,50 \text{ cm}^2$ tương đương với mẫu gel X là $39,60 \text{ cm}^2$. Diện tích đàn mỏng của các công thức gel phù hợp về độ đàn mỏng của thuốc bôi ngoài da từ (30-40) cm^2 được xem là phù hợp với thể chất [20].

3.2.5. Đánh giá độ ổn định

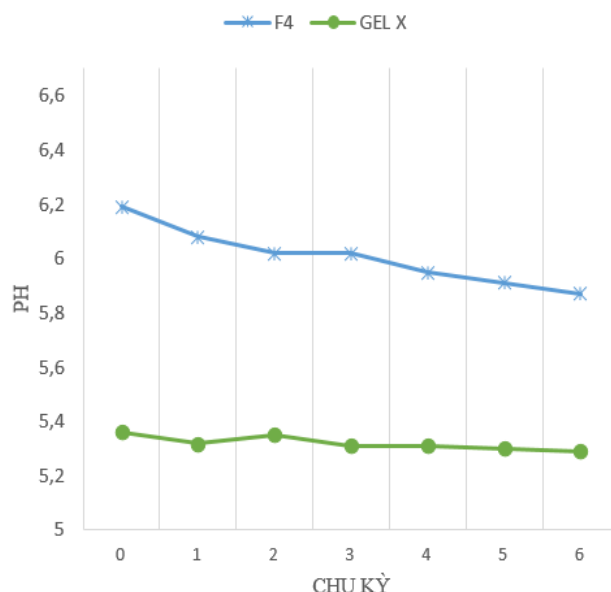
Kết quả thử nghiệm chu kỳ nóng – lạnh qua 6 chu kỳ được thể hiện:

- Cảm quan: công thức gel có thể chất mềm mịn, đồng nhất, không tách lớp, không bị chảy lỏng. Màu sắc và mùi không bị biến đổi trong 6 chu kỳ (Hình 5).



Hình 6 Thử nghiệm đánh giá sơ bộ độ ổn định

- pH: sau 6 chu kỳ nhiệt, giá trị pH của các công thức đều nằm trong khoảng cho phép pH an toàn trên da (Hình 6).



Hình 7 Giá trị pH trong 6 chu kỳ nhiệt

- Độ đồng nhất: trong 6 chu kỳ theo dõi nhận thấy các công thức gel đạt yêu cầu về độ đồng nhất theo quy định.

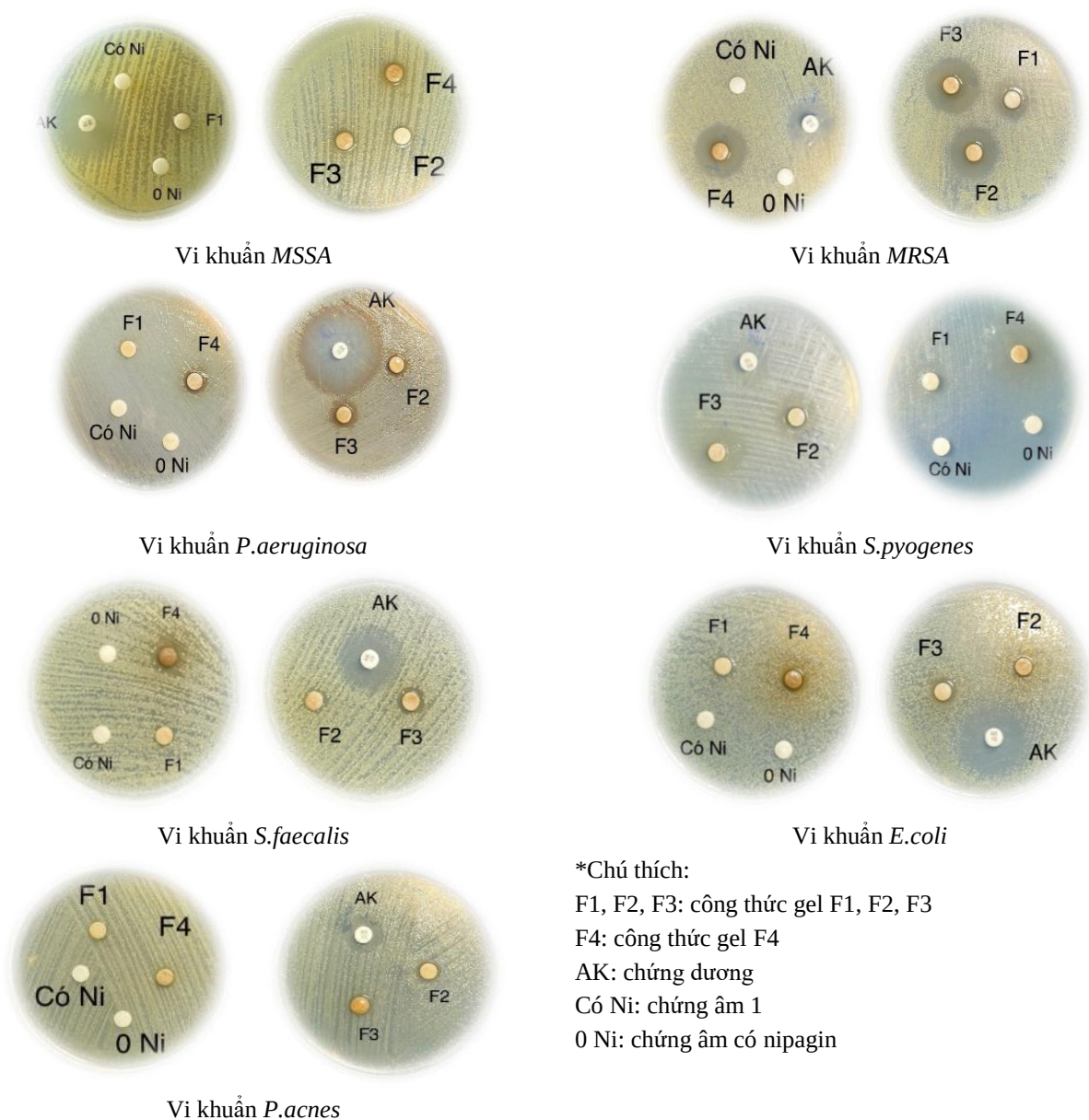
3.2.6 Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả kháng khuẩn, kháng nấm của gel được thể hiện ở Bảng 6

Bảng 6 Bảng kết quả đường kính vòng kháng khuẩn, kháng nấm của công thức gel

Vi khuẩn	F4 (mm)	Chứng dương (mm)	Chứng âm 1 (mm)	Chứng âm không Nipagin M2 (mm)
MSSA	$11,33 \pm 0,29$	$22,17 \pm 0,29$	0	0
MRSA	$22,67 \pm 1,15$	$17,33 \pm 0,29$	0	0
<i>S.pyogenes</i>	$21,17 \pm 0,29$	$19,33 \pm 0,58$	0	0
<i>S.faecalis</i>	$11,83 \pm 0,29$	$21 \pm 0,87$	0	0
<i>E.coli</i>	$10,17 \pm 0,29$	$23,33 \pm 0,58$	0	0

<i>P.aeruginosa</i>	$12 \pm 1,32$	$28,33 \pm 2,89$	0	0
<i>P.acnes</i>	$9,17 \pm 0,29$	$14,17 \pm 0,29$	0	0



*Chú thích:

F1, F2, F3: công thức gel F1, F2, F3

F4: công thức gel F4

AK: chứng dương

Có Ni: chứng âm 1

0 Ni: chứng âm có nipagin

Hình 8 Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn của gel

Công thức gel F4 cho hoạt tính kháng khuẩn ở hầu hết các vi khuẩn khảo sát. Đường kính vòng kháng ở vi khuẩn MRSA là $(22,67 \pm 1,15)$ mm, mạnh hơn gấp 1,3 lần so với chứng dương amikacin (với đường kính vòng kháng khuẩn là $(17,33 \pm 0,29)$ mm). Vi khuẩn *S.pyogenes* cho đường kính vòng kháng khuẩn là $(21,17 \pm 0,29)$ mm, gấp 1,1 lần so với chứng dương amikacin (với đường kính vòng kháng khuẩn là $(19,33 \pm 0,58)$

mm) và cho đường kính vòng kháng khuẩn ở mức trung bình (10-14) mm) ở các loại vi khuẩn còn lại.

4 Kết luận

Thành phần gel bôi da chứa dịch chiết TK gồm có TK (dạng cao khô) 2 %, chất tạo gel (Na CMC) 3 %, chất kết dính (PEG 400) 3 %, nipagin M/ ethanol 70 % (chất bảo quản) 0,15 % và nước cất vừa đủ 100 %. Công thức gel đạt chỉ tiêu chất lượng sản phẩm về cảm quan, độ

pH, độ đồng nhất, độ dày mỏng, độ ổn định. Hoạt tính kháng vi sinh vật cho thấy chế phẩm kháng được 5 chủng vi khuẩn *MSSA*, *MRSA*, *S.pyogenes*, *S.faecalis*, *E.coli* và *P.aeruginosa*.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện bởi đề tài “Nghiên cứu công thức chế phẩm gel bôi da chứa dịch chiết nước lá TK (*Piper betle* L. Piperaceae)” (mã số 2024.01.174) do Trường Đại học Nguyễn Tất Thành tài trợ.

Tài liệu tham khảo

1. Alam, Badrul Akter, Fahima Parvin, Nahida Pia, Rashna Sharmin Akter, Sharmin Chowdhury, . . . Kazi Haque, E. (2013). Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Piper betle* leaves. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(2), 112.
2. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
3. Bhinge, S. D., Bhutkar, M. A., Randive, D. S., Wadkar, G. H., Kamble, S. Y., Kalel, P. D., & Kadam, S. S. (2019). Formulation and evaluation of polyherbal gel containing extracts of *Azadirachta indica*, *Adhatoda vasica*, *Piper betle*, *Ocimum tenuiflorum* and *Pongamia pinnata*. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(1). DOI: 10.12991/jrp.2018.107
4. Bộ Y Tế. (2018). *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
5. Đỗ Huy Bích và cộng sự. (2006). *Cây Thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam (Tập II)*. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 1007-1010.
6. Đỗ Tất Lợi. (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 118-119.
7. Hadning, I., Kurnyaningtyas, P., & Ghazali, M. T. (2020). The Formulation of Lotion Preparations of Betel Leaf Extract (*Piper betle*). *Journal of Fundamental Applied Pharmaceutical Science*, 1(1), 29. DOI: 10.18196/jfaps.010104
8. Irianto, I. D. K., Purwanto, P., & Mardan, M. T. (2020). Aktivitas Antibakteri dan Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Dekokta Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Sebagai Alternatif Pengobatan Mastitis Sapi. *Majalah Farmaseutik*, 16(2), 202-210. DOI: 10.22146/farmaseutik.v16i2.53793
9. Irianto, Iramie Duma Kencana, Purwanto, Purwanto, & Triafrisan, M. M. (2020). Aktivitas Antibakteri dan Uji Sifat Fisik Sediaan Gel Dekokta Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Sebagai Alternatif Pengobatan Mastitis Sapi. *Majalah Farmaseutik*, 16(2), 202-210.
10. Kazi, K. N., Borana, P. H., & Ikale V. H. (2021). Formulation and Evaluation of An Anti-Oxidant Product From Betel Leaf Extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 10(7), 705-718 DOI: 10.20959/wjpr20217-20723
11. Lê Quang Nghiêm, & Huỳnh Văn Hóa. (2011). *Bào chế và sinh dược học (Vol 2)*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, Hà Nội, tr. 12-48, 73-109.
12. Mai Thị Minh Ngọc, Nguyễn Thị Thu Hiền, Vũ Thị Bích Huyền, Bùi Thị Hải Hòa, & Lê Minh Hải. (2022). Nghiên cứu chế tạo chế phẩm nhũ tương nano từ tinh dầu lá Trầu không (*Piper betle* L.) ứng dụng phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp AHPND ở tôm. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 434, 59-65.
13. Nayaka, N. M., Sasadara, M. M., Sanjaya, D. A., Yuda, P. E., Dewi, N. L., Cahyaningsih, E., & Hartati, R. (2021). *Piper betle* (L): Recent Review of Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications. *Molecules*, 26(8). DOI:10.3390/molecules26082321
14. Shukla, R., 2015. A Scientific Review on Common Chewing Plant of Asians: *Piper betle* Linn. *Journal of Harmonized Research in Pharmacy*, 4(1), 01–10.



15. Nikam, S. (2017). Anti-acne gel of isotretinoin: formulation and evaluation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(11), 257-266. DOI: 10.22159/ajpcr.2017.v10i11.19614
16. Nurahmanto, D., Mahrifah, I. R., Azis, R. F. N. I., & Rosyidi, V. A. (2017). Formulasi sediaan gel dispersi padat ibuprofen: studi gelling agent dan senyawa peningkat penetrasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 96-105.
17. Phạm Đình Duy, & Đoàn Duy Quốc. (2019). Xây dựng công thức gel nhũ tương dầu dừa (coconut oil) ứng dụng trong mỹ phẩm. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*, 61(7), 14-20.
18. Phan Thị Thanh Thủy, Nguyễn Mai Hương, Nguyễn Nhật Anh, Nguyễn Đình Nga, & Nguyễn Thị Chí Tâm. (2014). Khảo sát điều kiện chiết xuất cao trừ không (*Piper betle* L. Piperaceae). *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 18(2), 251-255.
19. Rowe, R. C., Sheskey, P., & Quinn, M. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients: Libros Digitales*. Pharmaceutical Press.
20. Setiyadi, G., & Qonitah, A. (2020). Optimasi Masker Gel Peel-Off Ekstrak Etanolik Daun Sirih (*Piper Betle* L.) dengan Kombinasi Carbomer dan Polivinil Alkohol. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), 174-183.

Preparation of skin gel with antibacterial effect containing aqueous Betel leaf extract (*Piper betle* L. Piperaceae)

Phan Thi Thanh Thuy^{1,*}, Phan Minh Hoang², Le Bao Oanh¹

¹Nguyen Tat Thanh University

²University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

*ptthuy@ntt.edu.vn

Abstract Nowadays, people tend to use natural medicinal herbs in pharmaceutical and cosmetic products. Betle leaf (*Piper betle* L. Piperaceae) is widely used in traditional medicine because it contains many active ingredients with antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties. To diversify the products derived from Betel leaves, our research aims to develop a gel formulation from aqueous Betel leaf extract with antibacterial properties to support disease treatment and skincare. The gel was formulated using Betel leaf extract with antibacterial activity and Na CMC as the gelling agent. The antibacterial activity was evaluated using the disc diffusion method according to CLSI guidelines. The gel formulation met quality standards with a smooth, homogeneous texture, brownish-yellow color, translucent, characteristic Betel scent, and pH of 6.02 ± 0.03 . Gel had a spreadability of 38.50 cm² and stability. The antimicrobial activity showed that the product was effective against five bacterial strains: *Escherichia coli*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, and *Streptococcus pyogenes*.

Keywords Antibacterial, Betle leaf, Gel, Na CMC, *Piper betle*.

Ảnh hưởng của phương pháp bào chế đến tác dụng an thần của Viễn chí trên thực nghiệm

Nguyễn Thị Phương Thùy^{1,*}, Danh Đức Khải¹, Lư Bích Ngọc Giàu², Vũ Thị Hiệp¹

¹Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Phòng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*ntpthuy@ump.edu.vn

Tóm tắt

Viễn chí có tác dụng an thần ích trí, hóa đàm, chỉ khát, giải độc, nhưng khi dùng sống có thể gây kích ứng dạ dày và tổn thương đường ruột. Để giảm độc tính và tăng hiệu quả điều trị, Viễn chí được bào chế bằng nhiều phương pháp, trong đó Bộ Y tế Việt Nam hướng dẫn hai phương pháp là Viễn chí sao cám và Viễn chí chích cam thảo. Trong nghiên cứu này, tác dụng an thần được đánh giá bằng mô hình sáng tối và rotarod. Kết quả cho thấy Viễn chí phiên không thể hiện tác dụng an thần ở liều thử nghiệm. Viễn chí sao cám và Viễn chí chích cam thảo đều thể hiện tác dụng an thần ở liều uống 2,88 g dược liệu/kg. Viễn chí sao cám có tác dụng an thần tương đương với Viễn chí chích cam thảo trong các mô hình thử nghiệm. Sự gia tăng hiệu quả an thần có thể liên quan đến việc tăng hàm lượng saponin và tenuifolin sau khi chế biến. Như vậy, các phương pháp bào chế có ảnh hưởng đáng kể đến tác dụng an thần của Viễn chí. Những phát hiện này cung cấp bằng chứng để tối ưu hóa việc sử dụng Viễn chí trong lâm sàng.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 04/08/2024

Được duyệt 27/11/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa

Viễn chí, phương pháp bào chế, an thần, mô hình sáng tối, rotarod

1 Đặt vấn đề

Viễn chí (*Radix Polygalae*) – VC, được bắt đầu ghi chép từ cuốn "Thần nông bản thảo kinh", là rễ khô cây VC lá nhỏ (*Polygala tenuifolia* Willd.) và cây VC Siberia, hay VC lá trứng (*Polygala sibirica* L.), họ VC (Polygalaceae). VC có tính âm, vị đắng và cay, quy kinh tâm, thận và phế, có tác dụng an thần ích trí, trừ đờm chỉ khát. Trong lâm sàng, VC thường được dùng để trị mất ngủ, hay quên, hồi hộp, đánh trống ngực, tinh thần hoảng hốt, bất an, lo lắng, ho lâu không dứt, ho có đờm, mụn nhọt, vú sưng đau [1]. Tuy nhiên, khi sử dụng VC sống có thể gây ra các tác dụng phụ như kích ứng hầu họng, dạ dày và tổn thương đường ruột [2]. Do đó, VC cần được bào chế trước khi sử dụng để đảm bảo an toàn. Trong lịch sử, VC được bào chế bằng nhiều

phương pháp như loại bỏ lõi, sao vàng, chích cam thảo hoặc chích gừng, nấu với gạo nếp hoặc đậu đen.... Mặc dù có nhiều phương pháp bào chế khác nhau, nhưng tất cả đều nhằm mục đích giảm độc và tăng hiệu quả điều trị của VC [3]. Tại Việt Nam, theo hướng dẫn của Bộ Y tế, VC được bào chế theo hai phương pháp là VC sao cám và VC chích cam thảo [1, 4].

Trong các tác dụng, VC nổi bật về tác dụng an thần ích trí. Chiết xuất ethanol của VC có thể kéo dài thời gian ngủ và làm tăng tỷ lệ ngủ của chuột [5]. Tenuifolin, một thành phần chính từ VC, có tác dụng an thần trên chuột nhắt trắng với liều uống là (40 và 80) mg/kg thông qua phân tích điện não đồ và điện cơ đồ [6]. Bên cạnh đó, VC chích mật, VC chích cam thảo và VC chế gừng đều có thể làm giảm rõ rệt hoạt động tự phát của chuột so với nhóm chuột sử dụng VC sống, cho thấy các sản

phẩm bào chế từ VC có tác dụng an thần [7]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào chứng minh tác dụng của việc bào chế VC theo các phương pháp khác ở Việt Nam có tác động như thế nào đối với tác dụng an thần của VC. Câu hỏi: việc bào chế VC theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam ảnh hưởng như thế nào đến tác dụng an thần? Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành, bước đầu khảo sát sự ảnh hưởng của các phương pháp bào chế theo hướng dẫn của Bộ Y tế đến tác dụng an thần của VC, đồng thời cung cấp chứng cứ khoa học để tối ưu hóa bào chế và ứng dụng VC trên lâm sàng.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

VC phiên đã bỏ lõi (*Radix Polygalae*, là rễ khô của VC đã được loại bỏ lõi giữa, còn gọi là VC sống) và cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*) được cung cấp bởi Công ty Khải Hà Pharco JSC, đạt tiêu chuẩn cơ sở (VC có độ ẩm $\leq 12\%$, chất chiết được $\geq 30\%$ tính theo dược liệu khô kiệt; cam thảo có độ ẩm $\leq 12\%$, chứa $\geq 2\%$ acid glycyrrhizic tính theo dược liệu khô kiệt).

Chuột nhắt trắng đực (chủng *Swiss albino*, (5-6) tuần tuổi, $20\text{ g} \pm 2\text{ g}$) từ Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi trong lồng có kích thước $20\text{ cm} \times 35\text{ cm} \times 15\text{ cm}$ ở nhiệt độ (25-28) °C, với chế độ chiếu sáng tự nhiên, mỗi lồng (6-8) con chuột. Chuột được nuôi ổn định ít nhất 1 tuần trước khi tiến hành thử nghiệm. Tất cả các thử nghiệm đã được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu trên động vật của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam chấp thuận (Quyết định số 662/GCN-HĐĐĐNCTĐV) và được thực hiện tại Đơn vị Y Dược học cổ truyền, Khoa Y học cổ truyền, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Thuốc đối chiếu: diazepam 5 mg (Zepam), dạng viên nén do Công ty dược phẩm MS pharma (Thailand) sản xuất, số lô L220190, hạn dùng 02/2025.

Trang thiết bị: mô hình sáng tối (Model LE816, Panlab, Spain); mô hình rotarod (Model 47600, Ugo Basile, Italia); cân phân tích 4 số lẻ (CP224S, Sartorius – Germany); cân phân tích 2 số lẻ (080800105, Tanita, Japan).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bào chế VC

VC sao cam được bào chế theo Thông tư 30/2017/TT-BYT của Bộ Y tế [4]. Công thức bào chế 150 g VC sao cam gồm 150 g VC phiên và 30 g cam gạo. Nhiệt độ sao 100 °C. Tiến hành sao cam gạo cho đến khi bốc khói trắng, sau đó cho VC vào và đảo đều. Tiếp tục sao đến khi bề mặt dược liệu chuyển sang màu vàng đậm, rồi lấy ra, để nguội và rây bỏ cam.

VC chích cam thảo được bào chế theo chuyên luận “Dược liệu” của Dược điển Việt Nam V (ĐDVN V) [1]. Công thức bào chế 150 g VC chích cam thảo gồm 150 g VC phiên và 9 g cam thảo. Thêm lượng nước thích hợp vào cam thảo và sắc lấy nước cam thảo, bỏ bã. Sau đó cho VC đã cắt đoạn vào, đun nhẹ ở (80-90) °C cho đến khi VC thấm hết nước sắc cam thảo, rồi lấy ra phơi hoặc sấy khô.

Xác định độ ẩm của 3 loại VC (theo Phụ lục 9.6, ĐDVN V) [1] và tính lượng hao hụt sau bào chế theo công thức:

$$\text{Lượng hao hụt (\%)} = \frac{m_{vcp} - m_{vcbc}}{m_{vcp}} \times 100$$

Với m_{vcp} : khối lượng VC phiên

m_{vcbc} : khối lượng VC sau bào chế

2.2.2 Chiết xuất cao thuốc: phương pháp chiết nóng

Cân chính xác 100 g dược liệu, rửa sạch. Dung môi chiết xuất là nước đạt tiêu chuẩn nước uống, tỷ lệ dược liệu:dung môi là 1:10. Sắc 2 lần (mỗi lần đun sôi 45 phút) rồi lọc lấy dịch lọc. Sau đó cô lại để được cao lỏng 1:1. Chiết xuất 3 loại cao chiết theo phương pháp đã trình bày ở trên, ký hiệu là: cao T1 (VC phiên); cao T2 (VC sao cam); cao T3 (VC chích cam thảo).

Liều sử dụng VC trên chuột là 2,88 g dược liệu/kg thể trọng chuột (liều sử dụng được quy đổi từ liều lâm sàng sử dụng trên người, hệ số quy đổi là 12) [8].

2.2.3. Khảo sát tác dụng an thần trên mô hình hai ngăn sáng tối

Mô hình 2 ngăn sáng tối (Panlab Black and White box, Spain) gồm ngăn sáng (250 mm × 250 mm × 240 mm) và ngăn tối (160 mm × 250 mm × 240 mm), nối qua cửa kích thước 70 mm × 70 mm ở bên dưới, chính giữa hộp. Thời gian và số lần chuột di chuyển vào các ngăn được máy tính ghi nhận thông qua phần mềm chuyên dụng (PPC Win v2.0.03).

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô có 8 chuột như sau:

Lô chứng sinh lý: uống nước cất liều 0,1 ml/kg chuột.

Lô đối chiếu: uống diazepam liều 5 mg/kg chuột.

Lô thử 1: uống cao VC phiến (cao T1), liều 2,88 g được liều/kg thể trọng chuột.

Lô thử 2: uống cao VC sao cám (cao T2), liều 2,88 g được liều/kg thể trọng chuột.

Lô thử 3: uống cao VC trích cam thảo (cao T3), liều 2,88 g được liều/kg thể trọng chuột.

Sau khi uống thuốc 30 phút và 60 phút, chuột được đặt ở cửa ngăn cách vùng sáng và tối, hướng ra ngăn sáng. Sau đó, chuột được tự do khám phá trong 5 phút. Ghi nhận và so sánh thời gian ở ngăn sáng của chuột giữa các lô [9].

2.2.4 Khảo sát tác dụng an thần trên mô hình rotarod
Tiến hành thử nghiệm trên một thanh quay nằm ngang có đường kính 3 cm, cao hơn mặt sàn 25 cm (Ugo Basile, Model 47600, Italia), quay với tốc độ 36

vòng/phút. Chuột được tập chạy trên trục quay và những chuột bám trên trục rotarod trong hơn 3 phút được đưa vào thí nghiệm.

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô tương tự như trong thử nghiệm mô hình hai ngăn sáng tối.

Sau khi uống thuốc 30 phút và 60 phút, đặt chuột lên trục quay rotarod. Quan sát và so sánh thời gian chuột bám trên trục quay cho đến khi rơi xuống ở thời điểm sau khi dùng thuốc 30 phút và 60 phút của mỗi lô [10].

2.3 Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm MS.EXCEL 2016 và được trình bày dưới dạng Mean $\pm$ standard deviation (S.D.). So sánh sự khác nhau giữa các nhóm bằng phép kiểm One-Way ANOVA (khi có trên 2 nhóm), và T-Test hoặc Mann-Whitney (cho so sánh cặp). Sự khác nhau được xem là có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

3 Kết quả nghiên cứu

3.1 Kết quả bào chế VC

Bảng 1 Đặc điểm của các dạng bào chế VC.

Dạng bào chế	Đặc điểm	Hao hụt theo khối lượng trước khi sao (%)	Độ ẩm (%)
VC phiến	Mặt ngoài màu vàng xám hoặc xám tro. Mặt gãy có phần vỏ màu vàng nâu, hoặc nâu nhạt, lõi rỗng [1]	0	8,53
VC sao cám	Mặt ngoài màu vàng đậm [4]	10,00	7,34
VC trích cam thảo	Mặt ngoài màu vàng đậm, có những nếp nhăn đường nứt ngang. Vị đắng nhẹ, hơi cay, hơi ngọt [1, 4]	1,67	7,99



Hình 1 VC trước và sau bào chế

Phương pháp bào chế VC sao cám có tỷ lệ hao hụt cao hơn phương pháp bào chế VC trích cam thảo. VC sao cám cũng có độ ẩm thấp nhất trong ba dạng bào chế (Bảng 1). Hình 1 cho thấy sự thay đổi màu sắc và đặc điểm của VC sau bào chế. VC sao cám có hao hụt cao nhưng độ ẩm thấp, phù hợp cho ứng dụng bảo quản lâu dài.

3.2 Khảo sát tác dụng an thần trên mô hình hai ngăn sáng tối

Bảng 2 Thời gian chuột ở ngăn sáng của các lô thí nghiệm trên mô hình hai ngăn sáng tối

Lô (n = 8)	Thời gian chuột ở ngăn sáng (giây)	
	30 phút sau uống thuốc	60 phút sau uống thuốc
Chứng sinh lý	83,50 $\pm$ 39,13	86,50 $\pm$ 12,69
Đối chiếu (diazepam 5 mg/kg)	143,75 $\pm$ 36,85*	154,38 $\pm$ 64,44*
T1 (2,88 g được liều/kg)	112,25 $\pm$ 27,80	72,00 $\pm$ 23,89

T2 (2,88 g được liệu/kg)	147,63 ± 18,51*	103,05 ± 33,51 [#]
T3 (2,88 g được liệu/kg)	146,00 ± 25,28*	90,50 ± 37,49 [#]

Ghi chú: * $p < 0,05$ so với lô chứng; [#] $p < 0,05$ so với lô đối chiếu

Diazepam (5 mg/kg) làm tăng thời gian ở ngăn sáng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$), lần lượt là 72,16 % và 78,47 % tại thời điểm 30 phút và 60 phút sau uống thuốc. Cao T1 không làm thay đổi thời gian chuột ở ngăn sáng so với lô sinh lý ($p > 0,05$) ở cả 2 thời điểm 30 phút và 60 phút sau uống thuốc. Cao T2 và T3 làm tăng thời gian chuột ở ngăn sáng sau 30 phút

uống thuốc, nhưng không duy trì được hiệu quả sau 60 phút ($p > 0,05$). Tác dụng giải lo âu của cao T2 và T3 tương đương nhau trên chuột sau 30 phút uống thuốc và đều có tác dụng ngắn hơn diazepam. Cao T2 và T3 đều có tác dụng giải lo âu ngắn hạn, thể hiện tiềm năng ứng dụng lâm sàng.

3.3 Khảo sát tác dụng an thần trên mô hình rotarod

Bảng 3 Thời gian bám của chuột ở các lô thí nghiệm trên mô hình rotarod

Lô (n = 8)	Thời gian bám của chuột trên thanh quay (giây)	
	30 phút sau uống thuốc	60 phút sau uống thuốc
Chứng	406,71 ± 126,39	426,71 ± 173,51
Đối chiếu (diazepam 5 mg/kg)	50,00 ± 29,40***	67,14 ± 40,00***
T1 (3,6 g được liệu/kg)	289,00 ± 193,37	392,86 ± 190,52
T2 (3,6 g được liệu/kg)	116,57 ± 91,69*** [#]	195,29 ± 103,48* [#]
T3 (3,6 g được liệu/kg)	93,14 ± 51,70*** [#]	207,86 ± 191,82* [#]

Ghi chú: * $p < 0,05$ so với lô chứng; *** $p < 0,001$ so với lô chứng; [#] $p < 0,05$ so với lô đối chiếu

Diazepam (5 mg/kg) làm giảm lần lượt 87,71 % và 84,27 % thời gian bám của chuột trên thanh quay so với lô chứng sinh lý ở cả 2 thời điểm 30 phút và 60 phút sau uống thuốc ($p < 0,001$). Cao T1 (2,88 g được liệu/kg) không làm thay đổi thời gian chuột ở lại trên thanh rota so với lô chứng ($p > 0,05$); trong khi cao T2 và T3 làm giảm thời gian chuột bám trên thanh quay so với lô chứng sinh lý ở liều 2,88 g được liệu/kg ở cả 2 thời điểm 30 phút ($p < 0,001$) và 60 phút ($p < 0,05$) sau uống thuốc. Cao T2 có tác dụng an thần tương đương với cao T3 trên chuột tại cả hai thời điểm 30 phút và 60 phút sau uống thuốc. Cao T2 và T3 có hiệu quả an thần yếu hơn diazepam nhưng vẫn duy trì được tác dụng rõ rệt so với lô chứng.

4 Bàn luận

Trong nghiên cứu này tiến hành xem xét ảnh hưởng của 2 phương pháp bào chế theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam là VC sao cám và VC chích cam thảo đến tác dụng an thần của VC [1, 4]. Theo y học cổ truyền, VC sống gây khô táo, vị đắng, khô và kích ứng [1, 11]. Kỹ thuật sao cám có tác dụng làm thơm thuốc, giảm bớt tính hạo của thuốc, làm hòa hoãn vị thuốc, giảm tính kích ứng của VC, tăng quy kinh Tỳ, bổ Tỳ Vị, Tỳ Vị khỏe mạnh thì cung cấp đầy đủ khí huyết cho tạng phủ,

đặc biệt là tạng Tâm [12]. Kỹ thuật chích cam thảo được thực hiện nhằm tăng tác dụng nhuận bồ, kiện Tỳ, ích khí, tăng tác dụng dẫn vào 12 kinh, đặc biệt là kinh Tâm, loại bỏ cảm giác tê, giảm độc tính của vị thuốc và điều hòa tính mãnh liệt của thuốc (VC chích cam thảo có LD₅₀ cao hơn VC phiên trên chuột) [7, 11, 12]. Quá trình bào chế đã làm nước bay hơi, từ đó làm giảm độ ẩm của VC sau chế biến, giúp được liệu có thể được bảo quản trong thời dài hơn, hạn chế sự phát triển của vi sinh vật, nấm mốc [12]. Bào chế VC cũng gây hao hụt khối lượng so với khối lượng VC trước khi bào chế. Quá trình bào chế VC sao cám có tỷ lệ hao hụt nhiều hơn VC chích cam thảo do quá trình đảo được liệu nhiều hơn khiến tỷ lệ được liệu vụn nát nhiều hơn. Ngoài ra, nhiệt độ bào chế cũng ảnh hưởng đến hao hụt về khối lượng: phương pháp sao cám có nhiệt độ bào chế cao hơn so với chích cam thảo, nhiệt độ cao hơn làm tăng tỷ lệ mất các thành phần hòa tan trong cồn [13]. Tuy nhiên, VC sao cám có độ ẩm thấp hơn VC chích cam thảo, giúp bảo quản được liệu được lâu dài hơn. Phương pháp chiết xuất cao VC được sử dụng trong nghiên cứu là phương pháp sắc thuốc với nước. Đây cũng là phương pháp sử dụng thuốc thang cổ truyền được áp dụng phổ biến trên lâm sàng.

Tác dụng an thần của các cao VC được đánh giá bằng mô hình hai ngăn sáng tối và rotarod. Mô hình 2 ngăn sáng tối dựa trên ác cảm bẩm sinh của loài gặm nhấm đối với các khu vực được chiếu sáng và hành vi thăm dò tự phát của loài gặm nhấm để đáp ứng với các tác nhân gây căng thẳng. Khi ở môi trường mới, chuột có xu hướng ở vùng tối hơn là ra vùng sáng, nếu thuốc có tác dụng giải lo âu sẽ làm tăng thời gian ra ngăn sáng của chuột. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng chỉ cần thời gian ở ngăn sáng để đánh giá tác dụng an thần giải lo âu của thuốc [9]. Thử nghiệm rotarod được sử dụng để đánh giá tác dụng giãn cơ của thuốc thông qua khả năng bám trên trục quay của chuột [10]. Thuốc giãn cơ hoặc thuốc an thần ức chế hệ thần kinh trung ương, dẫn tới làm giảm phối hợp thần kinh-cơ, giảm khả năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên làm giảm khả năng bám của chuột trên thanh quay, từ đó làm giảm thời gian bám trên trục quay của chuột. Kết quả đánh giá tác dụng an thần của các dạng bào chế VC, bao gồm VC phiến, VC sao cám và VC chích cam thảo trên mô hình sáng-tối (Bảng 2) và rotarod (Bảng 3), cho thấy VC sao cám và VC chích cam thảo có hiệu quả an thần và giải lo âu cao hơn đáng kể so với VC phiến. Điều này khẳng định vai trò quan trọng của phương pháp bào chế trong việc tăng cường tác dụng dược lý của VC. Kết quả từ một nghiên cứu trước đó cũng đã cho thấy VC chích cam thảo (sử dụng cam thảo với tỷ lệ 6 %) có tác dụng làm dịu và an thần cao hơn VC phiến trên mô hình đánh giá hoạt động tự phát của chuột [7]. Sự gia tăng hiệu quả này liên quan đến sự thay đổi thành phần hóa học của VC sau bào chế, với hàm lượng các hoạt chất như saponin A, tenuifolin và các hợp chất khác đều tăng lên đáng kể sau khi bào chế với cam thảo [14]. Hơn nữa, tenuifolin, với liều (40 và 80) mg/kg, đã được chứng minh có khả năng kéo dài tổng thời gian ngủ ở chuột nhất trắng thông qua việc tăng thời lượng giấc ngủ NREM và REM [6]. Điều này làm rõ cơ chế tác dụng của VC chích cam thảo, khi sự gia tăng hoạt chất an thần sau bào chế đóng vai trò chủ đạo. Ngoài ra, VC sao cám cũng cho thấy hiệu quả an thần cao hơn VC phiến, dự đoán phương pháp sao cám

cũng làm tăng lượng hoạt chất có tác dụng an thần của VC. Cần thực hiện thêm các nghiên cứu khác để xác định sự thay đổi hàm lượng hoạt chất có tác dụng an thần của VC sao cám.

Các kết quả nghiên cứu đã chứng minh rằng phương pháp bào chế có ảnh hưởng rõ rệt đến tác dụng an thần của VC, làm tăng hiệu quả an thần của dược liệu này. VC sao cám thể hiện tác dụng an thần giải lo âu tương đương với VC chích cam thảo. Mặc dù VC sao cám và VC chích cam thảo đều cho thấy tác dụng an thần và giải lo âu vượt trội hơn VC phiến, hiệu lực an thần và giải lo âu của cả hai dạng bào chế này vẫn thấp hơn đáng kể so với diazepam, một thuốc chuẩn trong điều trị an thần và giải lo âu.

Nghiên cứu này chỉ mới nghiên cứu các dạng bào chế VC được Bộ Y tế Việt Nam hướng dẫn là VC sao cám và VC chích cam thảo, nghiên cứu trên 1 liều dùng của VC được suy từ liều sử dụng trên người, và chưa đánh giá tính an toàn của VC với các dạng bào chế khác nhau. Vì vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu về độc tính để đánh giá tính an toàn của các dạng bào chế VC. Bên cạnh đó, cần khảo sát thêm về điều kiện nhiệt độ và thời gian bào chế VC, từ đó xác định điều kiện bào chế và dạng bào chế VC có hàm lượng hoạt chất có tác dụng an thần (tenuifolin) cao nhất.

5 Kết luận

Nghiên cứu trên mô hình hai ngăn sáng tối và rotarod đã chứng minh rằng việc bào chế VC theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam làm tăng đáng kể tác dụng an thần của dược liệu. Cụ thể, hai phương pháp bào chế VC sao cám và chích cam thảo đều giúp cải thiện hiệu quả an thần so với VC phiến. Kết quả này cung cấp bằng chứng khoa học quan trọng, góp phần củng cố cơ sở lý luận và giảng dạy Y học cổ truyền về tác dụng và ứng dụng lâm sàng của các dạng bào chế VC. Đặc biệt, các phương pháp bào chế VC sao cám và chích cam thảo là lựa chọn tiềm năng trong điều trị an thần – giải lo âu, mở ra hướng nghiên cứu tiếp theo về tối ưu hóa quy trình bào chế và đánh giá tính an toàn.

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế. (2017). *Dược điển Việt Nam V*. Hà Nội: NXB Y học, 1369-1370, PL-9, PL-278, PL-9.6.
2. Wang R., Wu T., Liu Y., et al. (2018). The effect of Radix Polygala and honey stir-baking Radix Polygala on acute gastrointestinal toxicity of mice. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 16(8), 88-90.
3. Long Qian Feng (2007). *Bào chế thuốc y học cổ truyền*. Bắc Kinh: NXB Trung Y Dược Trung Quốc, 297-298.
4. Bộ Y tế. (2017). *Thông tư 30/2017/TT-BYT: Hướng dẫn phương pháp chế biến các vị thuốc cổ truyền*. 114.
5. Chen L., Xu D., Kong J., et al. (2018). Separation and identification of the hypnotic active ingredients of *Polygala tenuifolia* Willd. *Food and Machinery*, 34(8), 119-122, 182. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2018.08.024
6. Cao Q., Jiang Y., Cui S.Y., et al. (2016). Tenuifolin, a saponin derived from *Radix Polygalae*, exhibits sleep-enhancing effects in mice. *Phytomedicine*, 23(14), 1797-1805. DOI: 10.1016/j.phymed.2016.10.015.
7. Tang W., Liang Y. (2010). Experimental study on the detoxification and efficacy enhancement of processed Polygala. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy*, 19(12), 55-56.
8. Viện Dược liệu. (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Hà Nội: NXB Khoa học và Kỹ thuật, 385-387.
9. Bourin M. & Hascoet M. (2003). The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*, 463 (1-3), 55-65. DOI: 10.1016/s0014-2999(03)01274-3.
10. Shiotsuki H., Yoshimi K., Shimo Y., et al. (2010). A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *Journal of Neuroscience Methods*, 189(2), 180-185. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.03.026.
11. Đỗ Tất Lợi. (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Hà Nội: NXB Y học, 730-732.
12. Ye D. J., & Yuan S. T. (2005). *Trung dược đại từ điển*. Thượng Hải: NXB Khoa học Kỹ thuật Thượng Hải, 265-266.
13. Wang Y., Li Y., Zhao Y., & Chang L. (2014). Effects of drying process of Yuanzhi (*Radix polygalae*) on its bioactive ingredients. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 34(2), 206-213.
14. Gao H., Xiong X., Zhang Q., et al. (2021). Analysis of composition changes of *Polygalae Radix* before and after processing based on UPLC-LTQ-Orbitrap MS. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology*, 32(12), 1845-1854. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.12.015.

Effect of processing methods of *Radix Polygalae* on its sedative effects in experiment.

Nguyen Thi Phuong Thuy^{1,*}, Danh Duc Khai¹, Lu Bich Ngoc Giau², Vu Thi Hiep¹

¹Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

²Department of Science and Technology, Nguyen Tat Thanh University

*ntpthuy@ump.edu.vn

Abstract *Radix polygalae* has sedative, cognitive-enhancing, phlegm-dispelling, and detoxifying effects. However, its raw form may lead to gastric irritation and intestinal damage. Over time, *R. polygalae* has been processed using various methods to reduce toxicity and enhance therapeutic efficacy. According to the guidelines of the Ministry of Health of Viet Nam, *R. polygalae* is processed using two methods: bran-frying and licorice-frying. This study evaluated the effects of processing methods, as guided by the Ministry of Health, on the sedative effects of *R. polygalae* in experimental models. The sedative effects were assessed using the light-dark box and rotarod tests. The results showed that raw *R. polygalae* showed no sedative effects at the tested dose. The aqueous extracts of bran-fried and licorice-fried *R. polygalae* exhibited sedative effects at the same oral dose of 2.88 g of herb/kg. Both processing methods demonstrated comparable effects in the tested models. The enhanced sedative effects may be related to increased levels of saponins and tenuifolin after processing. Therefore, the processing methods significantly affect the sedative properties of *R. polygalae*. These findings provide evidence to optimize the clinical application of processed *R. polygalae* in anxiety management.

Keywords *Radix Polygalae*, processing method, sedative effect, light-dark box, rotarod

Đánh giá hiệu quả kiểm soát đường huyết giữa nhóm thuốc ức chế men Dipeptidyl peptidase-4 và nhóm thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển Natri-Glucose 2 trên bệnh nhân đái tháo đường tuýp 2 tại Bệnh viện Nhân dân Gia Định

Nguyễn Thị Chi^{1,*}, Phạm Hồng Thắm^{1,2}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Bệnh viện Nhân dân Gia Định, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

*ntchi@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Tại Việt Nam, nhóm thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển Natri-Glucose 2 và nhóm thuốc ức chế men Dipeptidyl peptidase-4 sử dụng trên bệnh nhân đái tháo đường tuýp 2 vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu đánh giá hiệu quả điều trị giữa nhóm thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển Natri-Glucose 2 và nhóm thuốc ức chế men Dipeptidyl peptidase-4 trong việc kiểm soát đường huyết. Nghiên cứu cắt ngang mô tả trên bệnh nhân đái tháo đường tuýp 2 trong khoảng thời gian từ tháng 1-2024 đến tháng 6-2024 tại Bệnh viện Nhân dân Gia Định. Kết quả cho thấy, đa số bệnh nhân sử dụng liệu pháp kết hợp với metformin (trên 80 %), hoạt chất được chỉ định nhiều nhất trong nhóm ức chế kênh đồng vận chuyển Natri-Glucose 2 là empagliflozin với 70,40 %, kế tiếp là dapagliflozin với 29,06 %; hoạt chất được chỉ định nhiều nhất trong nhóm ức chế men Dipeptidyl peptidase-4 là sitagliptin với 65,00 %, kế tiếp là vildagliitin với 23,30 % và cuối cùng là linagliptin chiếm 11,70 %. Cả hai nhóm đáp ứng hiệu quả trong việc kiểm soát đường huyết và không làm tăng nguy cơ hạ đường huyết.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 04/09/2024
Được duyệt 11/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa

ức chế SGLT-2,
ức chế DPP-4,
metformin, đái tháo
đường tuýp 2,
kiểm soát đường huyết

1 Đặt vấn đề

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) đang có xu hướng gia tăng không ngừng trong suốt nhiều năm qua. Theo ước tính của các chuyên gia thuộc Liên đoàn ĐTĐ quốc tế, dự đoán sẽ tăng đến 783 triệu người vào năm 2045 [1]. Tỷ lệ bệnh nhân (BN) đái tháo đường (ĐTĐ) tại Việt Nam tăng 312,5 % từ 1,6 triệu người trong năm 2010 đến 5,0 triệu người trong năm 2021. Bên cạnh đó, theo cơ sở dữ liệu Bảo hiểm Y tế quốc gia khảo sát trên 1,4 triệu bệnh nhân ĐTĐ tuýp 2 tại Việt Nam cho thấy tại thời

điểm phát hiện bệnh đã có 65 % BN phát hiện có biến chứng, đặc biệt về tim mạch chiếm cao nhất với tỷ lệ 34 % [2]. Chiến lược điều trị ĐTĐ tuýp 2 đã có sự thay đổi đáng kể trong một thập niên qua, ngăn ngừa biến cố tim mạch đã trở thành mục tiêu nền tảng và mục tiêu điều trị ĐTĐ dần được cá thể hóa [1,2].

Nhóm thuốc ức chế men dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) là nhóm thuốc được đánh giá đầu tiên và kết quả cho thấy nhóm có tác dụng trung tính, an toàn trên tim mạch [7-9]. Nhóm thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển natri-

glucose 2 (SGLT-2) được đánh giá vào năm 2015 cho thấy sự cải thiện đáng kể về kết cục tim mạch bên cạnh hiệu quả kiểm soát đường huyết ổn định, giúp mang lại hy vọng về cải thiện dự hậu tim mạch trên bệnh nhân ĐTĐ tuýp 2 [3-6]. Các nghiên cứu nhằm so sánh trực tiếp hiệu quả điều trị giữa nhóm thuốc ức chế SGLT-2 với nhóm thuốc ức chế DPP-4 vẫn còn nhiều hạn chế tại Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu này tiến hành với 2 mục tiêu: (1) Mô tả đặc điểm BN ĐTĐ tuýp 2 điều trị với thuốc ức chế men dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) hoặc nhóm thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển natri-glucose 2 (SGLT-2); (2) Đánh giá hiệu quả cải thiện đường huyết thông qua đánh giá và so sánh mức giảm đường huyết đối trung bình và mức giảm HbA1c trung bình đạt được sau 06 tháng điều trị.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu: BN có chẩn đoán ĐTĐ tuýp 2, điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Nhân dân Gia Định Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 01/2024 đến tháng 06/2024.

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu cắt ngang mô tả, theo dõi trong vòng 6 tháng (01/2024 – 06/2024).

Tiêu chuẩn lựa chọn: BN trên 18 tuổi; Sử dụng thuốc điều trị ức chế SGLT2 và/hoặc ức chế DPP-4 liên tục trong 6 tháng.

Tiêu chuẩn loại trừ: BN ĐTĐ tuýp 1, ĐTĐ thai kỳ và ĐTĐ nhiễm toan ceton; BN ĐTĐ tuýp 2 có thời gian sử dụng thuốc nghiên cứu dưới 06 tháng; bệnh nhân không đồng ý cung cấp thông tin phục vụ nghiên cứu
Cỡ mẫu: áp dụng công thức tính cỡ mẫu so sánh 02 tỷ lệ trên hai nhóm đối tượng, tỷ lệ BN đạt được mục tiêu điều trị của nhóm thuốc ức chế SGLT-2 (nhóm điều trị)

và nhóm thuốc ức chế DPP-4 (nhóm chứng) lần lượt là 62,2 % (p1) và 31,3 % (p2) [12], cỡ mẫu dự kiến tối thiểu 45 bệnh nhân/ nhóm thuốc.

Biến số nghiên cứu:

Đặc điểm BN: tuổi, giới, cân nặng, chiều cao, bệnh mắc kèm

Đặc điểm điều trị: thuốc điều trị, các chỉ số huyết áp tâm thu, cholesterol toàn phần, HDL-C và LDL-C

Mục tiêu kiểm soát đường huyết:

Mục tiêu đường huyết đối, phân thành hai nhóm: (4,4-7,2) M và (5,0-8,3) M.

Mục tiêu HbA1c, phân thành bốn nhóm: BN < 60 tuổi (mục tiêu HbA1c < 7,0 % và HbA1c < 8,0 %), BN ≥ 60 tuổi (mục tiêu HbA1c < 7,5 % và HbA1c < 8,5 %).

Đánh giá kết quả điều trị, phân thành hai nhóm: đạt mục tiêu và không đạt mục tiêu.

2.2 Xử lý số liệu

Được thu nhập và mã hóa bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 26. Các biến số định danh: giá trị trình bày dưới dạng tỷ lệ phần trăm (%). So sánh giữa hai tỷ lệ bằng kiểm định Chi - bình phương (χ^2) (nếu tần số kỳ vọng > 5) và kiểm định Fisher's exact (tần số kỳ vọng < 5). Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p -value < 0,05.

Vấn đề đạo đức: nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức Bệnh viện Nhân dân Gia Định, số quyết định 74/HĐĐĐ-NDGD, ngày 28 tháng 04 năm 2023.

3 Kết quả

Trong khoảng thời gian nghiên cứu từ tháng 01/2024 đến tháng 06/2024, có 114 BN thỏa điều kiện tham gia nghiên cứu với các kết quả như sau:

Đặc điểm nhân khẩu học

Bảng 1 Đặc điểm về độ tuổi giữa các nhóm nghiên cứu

Nhóm tuổi	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p-value
	n	%	n	%	
< 50 tuổi	7	13,00	7	11,70	
(50-59) tuổi	25	16,60	16	26,60	
< 60 tuổi	16	29,60	23	38,30	0,44
≥ 60 tuổi	38	70,40	37	61,70	
Tổng	54	100,00	60	100,00	
Tuổi, TB ± ĐLC	62,39 ± 8,88		62,22 ± 11,22		0,93

Kết quả cho thấy tỷ lệ nhóm BN cao tuổi (≥ 60 tuổi) chiếm tỷ lệ cao nhất, kế tiếp là nhóm (50-59) tuổi và cuối cùng là nhóm < 50 tuổi. Trong đó, nhóm ≥ 60 tuổi ở nhóm ức chế SGLT-2 chiếm 70,40 % không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 61,70 %, $p > 0,05$. Tuổi trung bình trong nhóm ức chế SGLT-2 là $62,39 \pm 8,88$; tuổi thấp nhất là 46 tuổi và tuổi cao nhất là 80 tuổi. Tuổi trung bình của nhóm ức chế DPP-4 là $62,22 \pm 11,22$; tuổi thấp nhất là 39 tuổi và tuổi cao nhất là 81 tuổi. Độ tuổi trung bình trong hai nhóm cũng phản ánh phân nhóm BN cao tuổi chiếm ưu thế trong nghiên cứu và giữa hai nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả trên có thể không tương đồng với một số nghiên cứu. Như nghiên cứu về độ tuổi trung bình trong

nhóm Canagliflozin ($n = 75$) là $57,22 \pm 11,51$ và nhóm Teneligliptin ($n = 70$) là $55,21 \pm 11,42$, $p = 0,53$ cho thấy phân nhóm BN (50-59) tuổi chiếm ưu thế [12]. Ngoài ra, nghiên cứu về độ tuổi trung bình trong nhóm ức chế SGLT-2 là $60,90 \pm 11,80$ và ở nhóm ức chế DPP-4 là $61,30 \pm 12,60$, $p = 0,29$ [13].

Phần lớn BN tham gia nghiên cứu là nữ giới. Trong đó, tỷ lệ BN là nữ ở nhóm ức chế SGLT-2 chiếm tỷ lệ 70,40 % không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 66,70 %, $p > 0,05$. Ngược lại, nam giới chiếm tỷ lệ cao hơn ở nhóm ức chế DPP-4 so với nhóm ức chế SGLT-2 với tỷ lệ lần lượt là 33,30 % và 29,60 %, $p > 0,05$.

3.1 Đặc điểm về yếu tố nguy cơ tim mạch (YTNC).

Bảng 2 YTNC tim mạch mắc kèm trên BN giữa hai nhóm

YTNC tim mạch	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p- value
	n	%	n	%	
Tăng huyết áp					
Có	48	88,90	45	75,00	0,06
Không	6	11,10	15	25,00	
Rối loạn lipid huyết					
Có	52	96,30	53	88,30	0,17
Không	2	3,70	7	11,70	
Béo phì					
Có	14	25,90	10	16,70	0,15
Không	40	74,10	50	83,30	
Tổng	54	100,00	60	100,00	

Tỷ lệ BN ĐTĐ mắc kèm rối loạn lipid huyết ở nhóm ức chế SGLT2-2 chiếm tỷ lệ 96,30 %, không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 88,30 % ($p > 0,05$). Tương tự, tỷ lệ BN mắc kèm tăng huyết áp ở nhóm ức chế SGLT-2 chiếm 88,90 % không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 75,00 % ($p > 0,05$). Nhóm ức chế SGLT2-2 có tỷ lệ BN kèm béo phì chiếm 25,90 % không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 16,70 % ($p > 0,05$).

Kết quả từ nghiên cứu tương đồng với khảo sát từ chương trình JADE (Joint Asia Diabetes Evaluation

Program) thực hiện trên dân số ĐTĐ tại Việt Nam vào năm 2014 cho thấy 70 % dân số ĐTĐ tại Việt Nam đi kèm các YTNC tim mạch [56]. Trong đó, chiếm tỷ lệ cao nhất là rối loạn lipid huyết với tỷ lệ 90 %, tăng huyết áp với 71 % và béo phì với 14 %. Qua đó, rối loạn lipid huyết và tăng huyết áp là hai bệnh lý đi kèm thường gặp nhất trên BN ĐTĐ tuýp 2 và sự kết hợp này sẽ thúc đẩy nhanh hơn các biến chứng ĐTĐ và làm tăng nguy cơ tử vong tim mạch và tử vong chung cao gấp 2 lần đến 4 lần so với BN không mắc ĐTĐ [15].

3.2 Đặc điểm về thuốc điều trị ĐTĐ

Bảng 3 Tỷ lệ sử dụng dạng thuốc phối hợp với metformin và đơn trị

Hoạt chất	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p-value
	n	%	n	%	
Dạng phối hợp metformin	44	81,50	53	88,30	0,31
Đơn trị	10	18,50	7	11,70	
Tổng	54	100,00	60	100,00	

Trong nghiên cứu, tỷ lệ BN sử dụng SGLT-2 phối hợp với metformin chiếm 81,50 % không thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ BN sử dụng DPP-4 phối hợp với metformin với 88,30 % ($p > 0,05$). Trong đó, hoạt chất được chỉ định nhiều nhất trong nhóm ức chế SGLT-2 là empagliflozin với 70,40 %, kế tiếp là dapagliflozin với 29,60 %. Hoạt chất được chỉ định nhiều nhất trong nhóm ức chế DPP-4 là sitagliptin với 65,00 %, kế tiếp là vildagliptin với 23,30 % và cuối cùng là linagliptin chiếm 11,70 %. Kết quả trên có thể

tương đồng với một số nghiên cứu. Như nghiên cứu có tỷ lệ BN sử dụng dạng canagliflozin phối hợp metformin chiếm 62,90 % không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ BN sử dụng dạng teneligliptin phối hợp metformin với 58,70 % ($p > 0,05$) [12]. Hay nghiên cứu có số lượng BN sử dụng dạng thuốc phối hợp với metformin giữa hai nhóm thuốc khác biệt không có ý nghĩa thống kê với 83,40 % (SGLT-2) và 83,90 % (DPP-4) ($p > 0,05$) [13].

Bảng 4 Đặc điểm về thuốc phối hợp trong điều trị ĐTĐ

Thuốc trị ĐTĐ	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		<i>p</i> -value
	n	%	n	%	
Phối hợp	38	70,40	38	63,30	0,43
Không	16	29,60	22	36,00	
Tổng	54	100,00	60	100,00	
Ức chế α-glucosidase					
Có	17	31,50	12	20,00	0,15
Không	37	68,50	48	80,00	
Sulfonylurea (SU)					
Có	23	42,60	29	48,30	0,54
Không	31	57,40	31	51,70	
Insulin					
Có	13	24,10	13	21,70	0,76
Không	41	75,90	47	78,30	
Tổng	54	100,00	60	100,00	

Tỷ lệ BN sử dụng nhóm sulfonylurea chiếm tỷ lệ cao nhất với tỷ lệ lần lượt ở hai nhóm là 42,60 % (SGLT-2) và 48,30 % (DPP-4) ($p > 0,05$). Kế tiếp là acarbose với tỷ lệ lần lượt ở hai nhóm là 31,50 % (SGLT-2) và 20,00 % (DPP-4), $p > 0,05$. Cuối cùng là insulin với 24,10 % (SGLT-2) và 21,70 % (DPP-4) ($p > 0,05$). Kết quả trên tương đồng với nghiên cứu của Shih-Chieh Shao và cộng sự (2020) [13] cho thấy tỷ lệ phối hợp với

nhóm sulfonylurea chiếm tỷ lệ cao nhất với 43,70 % (SGLT-2) và 42,60 % (DPP-4), kế tiếp là insulin với 16,30 % (SGLT-2) và 17,00 % (DPP-4) và cuối cùng là acarbose với tỷ lệ lần lượt ở nhóm ức chế SGLT-2 và nhóm ức chế DPP-4 là 10,00 % và 9,60 %, ($p > 0,05$).

3.3 Hiệu quả kiểm soát đường huyết

Bảng 5 Mục tiêu đường huyết mao mạch đối tại thời điểm ban đầu

Mục tiêu đường huyết	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p-value
	n	%	n	%	
(4,4-7,2) M	28	54,90	34	56,70	0,85
(5,0-8,3) M	23	45,10	26	43,30	
Tổng	51	100,00	60	100,00	

Trong nghiên cứu, tỷ lệ BN có mục tiêu đường huyết đối (4,4-7,2) M ở nhóm ức chế SGLT-2 chiếm 54,90 % không thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 56,70 % ($p > 0,05$). Tương tự, tỷ lệ BN có mục tiêu đường huyết đối (5,0-8,3) M lần lượt ở hai nhóm là 45,10 % (SGLT-2) và 43,30 % (DPP-4).

Bảng 6 Kết quả mục tiêu đường huyết tại thời điểm sau 6 tháng

Mục tiêu đường huyết	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p-value
	n	%	n	%	
Đạt	28	54,90	33	55,00	0,99
Chưa đạt	23	45,10	27	45,00	
Tổng	51	100,00	60	100,00	

Kết quả sau 06 tháng, tỷ lệ BN đạt mục tiêu đường huyết đối đạt ra ở nhóm ức chế SGLT-2 là 54,90 %, không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 55,00 % ($p > 0,05$) và tỷ lệ BN không đạt mục tiêu đường huyết đối lần lượt ở hai nhóm là 45,10 % (SGLT-2) và 45,00 % (DPP-4).

Kết quả từ nghiên cứu cho thấy tỷ lệ BN có mục tiêu đường huyết mao mạch đối (4,4-7,2) M chiếm tỷ lệ cao hơn mục tiêu đường huyết (5,0-8,3) M. Cập nhật từ hướng dẫn của ADA 2022 [11], mục tiêu đường huyết và HbA1c cần được cá thể hóa trên từng BN. Qua đó, mục tiêu đường huyết (4,4-7,2) M áp dụng trên BN < 60 tuổi hoặc BN ≥ 60 tuổi có nguy cơ hạ đường huyết thấp, không có bệnh lý tim mạch và không có nhiều bệnh kèm theo, tuân thủ điều trị tốt. Trong khi đó, mục tiêu đường huyết ít nghiêm ngặt (5,0-8,3) M có thể áp dụng trên BN ≥ 60 tuổi tiềm ẩn nguy cơ hạ đường

huyết, đã có bệnh lý nền tim mạch và nhiều bệnh lý kèm theo, hạn chế tuân thủ điều trị. Việc cá thể hóa mục tiêu đường huyết, giúp hạn chế nguy cơ hạ đường huyết và tăng tỷ lệ thành công điều trị cho NB ĐTĐ mới mắc hoặc điều trị lâu năm.

Sau 06 tháng, có gần 45 % BN không đạt mục tiêu đường huyết mao mạch đối. Tuy nhiên, con số này có thể không phản ánh chính xác hiệu quả kiểm soát đường huyết vì BN có thể đã tiêu thụ thực phẩm nhiều đường trước khi xét nghiệm. Bên cạnh đó, các nghiên cứu nền tảng như UKPDS [10] đều cho thấy HbA1c là yếu tố chính tiên lượng biến chứng. Vì vậy, đánh giá hiệu quả dựa trên chỉ số HbA1c phản ánh lượng đường huyết trung bình của BN trong vòng 03 tháng sẽ có giá trị tin cậy cao hơn.

3.4 Hiệu quả kiểm soát HbA1c

Bảng 7 Mục tiêu HbA1c tại thời điểm ban đầu

Mục tiêu HbA1c	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p-value
	n	%	n	%	
< 7,0 %	11	21,60	16	26,70	0,38
< 8,0 %	4	7,80	7	11,70	
BN < 60 tuổi	15	29,40	23	38,40	
< 7,5 %	15	29,40	16	26,60	
< 8,5 %	21	41,20	21	35,00	
BN ≥ 60 tuổi	36	70,60	37	61,60	
Tổng	51	100,00	60	100,00	

Trong nghiên cứu, BN ĐTĐ < 60 tuổi có mục tiêu HbA1c < 7,0 % ở nhóm ức chế SGLT-2 chiếm 21,60 %, không thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 26,70 % ($p > 0,05$). Tương tự, mục tiêu ít nghiêm ngặt HbA1c < 8,0 % lần lượt ở hai nhóm là 7,80 % (SGLT-2) và 11,70 % (DPP-4) ($p > 0,05$).

Bảng 8 Đánh giá về kết quả HbA1c thời điểm sau 6 tháng.

	Nhóm ức chế SGLT-2 (n = 54)		Nhóm ức chế DPP-4 (n = 60)		p-value
	n	%	n	%	
Đạt	43	84,30	53	88,30	0,54
Chưa đạt	8	15,70	7	11,70	
Tổng	51	100,00	60	100,00	

Sau 06 tháng, tỷ lệ BN đạt mục tiêu HbA1c đặt ra ở nhóm ức chế SGLT-2 chiếm 84,30 %, không cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ức chế DPP-4 với 88,30 % và tỷ lệ BN không đạt mục tiêu HbA1c lần lượt là 15,70 % (SGLT-2) và 11,70 % (DPP-4).

Tỷ lệ BN đạt mục tiêu HbA1c phản ánh chính xác hiệu quả kiểm soát đường huyết tương đương nhau giữa hai nhóm thuốc. Cập nhật theo hướng dẫn của ADA 2022 [11], BN ĐTĐ < 60 tuổi có hai mục tiêu kiểm soát HbA1c là mục tiêu HbA1c < 7,0 % (mục tiêu chung) và mục tiêu HbA1c < 8,0 % (ít nghiêm ngặt trên BN đã có bệnh lý ASCVD). Bên cạnh đó, trên BN ĐTĐ ≥

60 tuổi, mục tiêu kiểm soát chung là HbA1c < 7,5 % trên BN khỏe mạnh, chưa hình thành bệnh lý tim mạch xơ vữa và mục tiêu ít nghiêm ngặt hơn HbA1c < 8,5 % trên BN sức khỏe kém/ trung bình, đã có bệnh lý tim mạch xơ vữa. Qua đó, BN ĐTĐ đã có bệnh tim mạch sẽ có mục tiêu HbA1c ít chặt chẽ hơn, cụ thể là HbA1c < 8,0 % trên BN < 60 tuổi và HbA1c < 8,5 % trên BN ≥ 60 tuổi.

Trên BN ĐTĐ lớn tuổi ≥ 60 tuổi, tỷ lệ BN có mục tiêu HbA1c < 7,5 % lần lượt ở hai nhóm là 29,40 % (SGLT-2) và 26,60 % (DPP-4) và tỷ lệ BN có mục tiêu HbA1c ít nghiêm ngặt < 8,5 % lần lượt ở hai nhóm là 41,20 % (SGLT-2) và 35,00 % (DPP-4).

Đồng thời, BN lớn tuổi sẽ có mục tiêu điều trị ít chặt chẽ hơn. Do đó thay vì HbA1c < 7,0 % trên BN < 60 tuổi thì mục tiêu HbA1c < 7,5 % phù hợp hơn.

4 Kết luận

Nhóm thuốc ức chế SGLT-2 có hiệu quả đa dạng, tác động trên nhiều mặt trong điều trị ĐTĐ tuýp 2 và nhóm thuốc ức chế DPP-4 cho thấy tính an toàn và khả năng dung nạp cao phù hợp trong kiểm soát đường huyết trên BN ĐTĐ lớn tuổi với hiệu quả kiểm soát đường huyết ổn định mà không làm gia tăng nguy cơ hạ đường huyết và an toàn trên tim mạch. Việc điều trị tích cực và đồng bộ các YTNC tim mạch từ sớm như huyết áp, mỡ máu, cân nặng và lựa chọn thuốc điều trị ĐTĐ có lợi trên tim mạch sẽ giúp cải thiện dự hậu tim mạch cho bệnh nhân.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành, đề tài mã số 2024.01.93/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Hong Sun, Pouya Saeedi (2021). Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *International Diabetes Federation*, 17-20.
2. Nhã Khanh (2022). *Khoảng gần 5 triệu người Việt đang mắc bệnh đái tháo đường*. Bộ Y tế, cổng thông tin điện tử, truy cập ngày 08/05/2023.
3. Benjamin M. Scirica, Deepak L. Bhatt (2013). Saxagliptin and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine*.
4. William B. White, Christopher P. Cannon (2013). Alogliptin after acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*.
5. Jennifer B. Green, Angelyn Bethel (2015). Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*.
6. Julio Rosenstock, Vlado Perkovic (2019). Effect of Linagliptin vs Placebo on Major Cardiovascular Events in Adults with Type 2 Diabetes and High Cardiovascular and Renal Risk: The CARMELINA Randomized Clinical Trial. *JAMA Network*.
7. Bernard Zinman, Christoph Wanner (2015). Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*.
8. Bruce Neal, Vlado Perkovic (2017). Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*.
9. Stephen Wiviott, Itamar Raz (2019). Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*.
10. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group (1998). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The Lancet*.
11. American Diabetes Association Professional Practice Committee (2022). Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care*, 25(1).
12. Cheol Son, Hisashi Makino (2021). Comparison of efficacy between dipeptidyl peptidase-4 inhibitor and sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor on metabolic risk factors in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: Results from the CANTABILE study. *Diabetes Research and Clinical Practice*.
13. Shih-Chieh Shao, Kai-Cheng Chang (2020). Favorable pleiotropic effects of sodium glucose cotransporter 2 inhibitors: head-to-head comparisons with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes patients. *Cardiovascular Diabetology*, 19(1),17.
14. Roseanne O Yeung, Yuying Zhang (2014). Metabolic profiles and treatment gaps in young-onset type 2 diabetes in Asia (the JADE programme): a cross-sectional study of a prospective cohort. *The Lancet*, 2(12), 935-43.
15. Shan Lu, Ming-Yang Bao (2019). Prevalence of hypertension, diabetes, and dyslipidemia, and their additive effects on myocardial infarction and stroke: a cross-sectional study in Nanjing, China. *Annals of Internal Medicine*, 7(18), 436.

Evaluation of glucose lowering efficacy between Dipeptidyl Peptidase-4 inhibitors (DPP-4) and Sodium-Glucose cotransporter-2 inhibitors (SGLT-2) in type 2 diabetes mellitus patients at Hospital

Nguyễn Thị Chi^{1,*}, Phạm Hồng Thắm^{1,2}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Bệnh viện Nhân dân Gia Định, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

*ntchi@ntt.edu.vn

Abstract In Viet Nam, the use of SGLT-2 inhibitors and DPP-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes is limited. The study was conducted to evaluate the treatment efficacy between SGLT-2 inhibitors and DPP-4 inhibitors on blood sugar control. Descriptive cross-sectional study, 6-month follow-up was performed in type 2 diabetes patients from January 2024 to June 2024 at Nhan Dan Gia Dinh Hospital. Results have shown that over 80 % of patients were treated with metformin combination therapy. The most commonly prescribed active ingredient in the SGLT-2 inhibitor group is Empagliflozin with 70.40 %, followed by Dapagliflozin with 29.60 %. The most commonly prescribed active ingredient in the DPP-4 inhibitor group is Sitagliptin with 65.00 %, followed by Vildagliptin with 23.30% and Linagliptin with 11.70 %. The difference in glycemic control and HbA1c reduction after 6 months was not statistically significant between the SGLT-2 inhibitor group and the DPP-4 inhibitor group ($(1.20 \pm 0.80) \%$ vs $(1.10 \pm 0.70) \%$, respectively, $p > 0.05$). Both groups showed effectiveness in controlling blood sugar in patients and did not increase the risk of hypoglycemia. There is a relationship between blood sugar and cardiovascular outcomes in type 2 diabetic patients.

Keywords Sodium-Glucose cotransporter-2 inhibitors, Dipeptidyl Peptidase-4 inhibitors, metformin, type 2 diabetes, blood sugar control.

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Đinh Thị Lan Linh*, Nguyễn Thành Nghĩa

Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*dtlinh@ntt.edu.vnQu

Tóm tắt

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) phù hợp với điều kiện cơ sở vật chất sẵn có. Một phương pháp đã được xây dựng để định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin với pha động gồm acetonitril-nước acid percloric 0,01 % (33:67), pha tĩnh là cột HiQ sil C18HS (250 mm × 4,6 mm, 5 µm), nhiệt độ cột 35 °C, tốc độ dòng 1,2 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 10 µL, đầu dò PDA, bước sóng phát hiện 215 nm. Điều kiện xử lý mẫu: chiết bằng ethanol, không siêu âm. Phương pháp đã được thẩm định đạt yêu cầu theo hướng dẫn của ICH gồm tính phù hợp hệ thống; độ đặc hiệu; tính tuyến tính từ (5-35) ppm và (10100) ppm lần lượt cho indapamid và perindopril tert-butylamin với hệ số tương quan $R > 0,9999$; giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng lần lượt là 0,59 ppm và 1,79 ppm với indapamid và 1,47 ppm và 4,45 ppm với perindopril tert-butylamin; độ đúng, tỷ lệ thu hồi (98,0-102,0) %; độ chính xác SD < 2,0 %.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 04/09/2024
Được duyệt 23/11/2024
Công bố 28/12/2024

Từ khóa
tăng huyết áp,
indapamid, Perindopril
tert-butylamin, HPLC,
thẩm định.

1 Đặt vấn đề

Tăng huyết áp (HA) là một vấn đề sức khỏe nghiêm trọng trên toàn thế giới, là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu [1]. Hiện nay, trên thế giới có khoảng 1,5 tỷ người mắc tăng HA và 9,4 triệu ca tử vong mỗi năm. Ở nước ta, theo thống kê trong 5 người trưởng thành sẽ có 1 người bị tăng HA. Tuy nhiên, vẫn còn nhiều trường hợp mắc tăng HA chưa được phát hiện hoặc đang điều trị nhưng chưa được kiểm soát HA [2].

Mục tiêu chính trong điều trị tăng HA hiện nay là đưa HA về mức mục tiêu (< 140/90 mmHg theo hướng dẫn của WHO). Tuy nhiên, việc đơn trị liệu khó có thể kiểm soát và duy trì HA mục tiêu trong trường hợp tăng HA gây ra bởi sự phối hợp của nhiều cơ chế phức tạp do bệnh nhân cần phải được điều trị bằng nhiều loại thuốc

hạ HA cùng lúc. Do đó, ngày càng có nhiều hướng dẫn điều trị tăng HA của các quốc gia, khu vực và cả WHO đều khuyến cáo nên sử dụng viên phối hợp với liều cố định nhằm đơn giản hóa quy trình điều trị và tăng khả năng tuân thủ của bệnh nhân [3-6]. Trong đó, phối hợp đôi giữa nhóm thuốc ức chế men chuyển (perindopril tert-butylamin) hoặc nhóm thuốc chặn kênh canxi với nhóm thuốc lợi tiểu thiazid/ thiazid – like (indapamid) là lựa chọn đầu tay bởi mang lại nhiều lợi ích trong việc kiểm soát HA và tăng khả năng dung nạp của bệnh nhân đồng thời làm giảm tác dụng phụ của mỗi nhóm thuốc gây ra [7, 8].

Mặc dù có nhiều kỹ thuật để định lượng indapamid và perindopril tert-butylamin như quang phổ hấp thụ tử ngoại (UV-Vis), sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao (HPTLC) nhưng kỹ thuật sắc ký lỏng (LC) vẫn là kỹ

thuật phổ biến nhất. Một số quy trình định lượng đồng thời hai hoạt chất trên đã được công bố trên thế giới, song trong Dược điển Việt Nam V, Dược điển Mỹ hay Dược điển châu Âu vẫn chưa ban hành chuyên luận định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) theo hướng dẫn của Hội đồng quốc tế về Hải hòa hóa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho con người (ICH).

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

2.1.1 Mẫu nghiên cứu

Chế phẩm viên nén dorover plus của Công ty Cổ phần Xuất nhập khẩu Y tế DOMESCO. Mỗi viên nén chứa 1,25 mg indapamid và 4 mg perindopril tert-butylamin.

2.1.2 Chất đối chiếu

Indapamid (97,9 %), perindopril ter-butylamin (99,7 %), của Viện Kiểm nghiệm thuốc TP.HCM, Việt Nam.

2.1.3 Dung môi – hóa chất

Acetonitril (ACN), ethanol, methanol đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký lỏng (Merk, Germany), acid percloric đạt tiêu chuẩn dùng trong phân tích (Merck, Germany), nước khử khoáng.

2.1.4 Trang thiết bị

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu LC-2030C - HPLC, cột sắc ký HiQ sil C18HS (250 mm × 4,6 mm, 5 µm), bể siêu âm Elmasonic, cân phân tích Mettler Toledo, dụng cụ thủy tinh loại A đã được hiệu chuẩn và đạt yêu cầu.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chuẩn bị mẫu

Dung dịch thử: cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 1,25 mg indapamid và 4 mg perindopril tert-butylamin cho vào bình định mức 100 mL, thêm khoảng 50 mL dung môi, lắc kỹ, siêu âm 15 phút, để nguội. Bổ sung dung môi tới vạch, lắc đều. Dung dịch thu được có nồng độ indapamid 12,5 ppm và perindopril tert-butylamin 40 ppm.

Mẫu trắng: ethanol; **dung dịch chuẩn gốc:** perindopril tert-butylamin 400 ppm và indapamid 125 ppm; **dung dịch chuẩn:** perindopril tert-butylamin 40 ppm và indapamid 12,5 ppm; **dung dịch thử thêm chuẩn:** dung dịch thử được thêm (80, 100, và 120) % chuẩn để đạt nồng độ chuẩn lần lượt là (32, 40, và 44) ppm perindopril tert-butylamin và (10, 12,5, và 15) ppm indapamid; **dung dịch phân hủy:** mẫu nghiên cứu được đặt trong các điều kiện khắc nghiệt gồm: nhiệt độ (80 ± 2) °C, acid hydrocloric 2 N, oxy già 3 % và dung môi pha mẫu trong 24 giờ, ánh sáng mặt trời/12 giờ, base natri hydroxyd 0,2 N sau đó được trung hòa ngay bằng acid hydrocloric 0,2 N.

2.2.2 Xây dựng quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC

Dựa vào chuyên luận của perindopril tert-butylamin và indapamid trong các Dược điển [9-12] cũng như các công trình nghiên cứu đã công bố [13-16] để lựa chọn điều kiện sắc ký ban đầu như sau: cột sắc ký: HiQ sil C18HS (250 mm × 4,6 mm, 5 µm), nhiệt độ cột: 40 °C, thể tích tiêm mẫu: 10 µL, tốc độ dòng: 1 mL/phút, đầu dò: PDA, bước sóng phát hiện 215 nm, pha động: acetonitril-nước (60:40). Trong quá trình khảo sát, các yếu tố ảnh hưởng khả năng phân tích như: bước sóng phát hiện, pha động, nhiệt độ cột và tốc độ dòng đã được khảo sát. Sau khi lựa chọn được điều kiện sắc ký thích hợp sẽ tiếp tục tiến hành khảo sát điều kiện xử lý mẫu. Nghiên cứu này đã khảo sát dung môi chiết và thời gian chiết siêu âm để lựa chọn được dung môi và thời gian chiết siêu âm phù hợp.

2.2.3 Thẩm định quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC

Tiến hành thẩm định quy trình theo hướng dẫn của ICH gồm các chỉ tiêu: tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ đúng và độ chính xác.

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Xây dựng quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC

3.1.1 Lựa chọn bước sóng phát hiện

Theo kết quả nghiên cứu của công trình đã công bố quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC trên thể giới, bước sóng phát hiện là 215 nm. Trong nghiên cứu này, kết quả quét phổ UV của indapamid chuẩn cho thấy indapamid có độ hấp thu cao trong

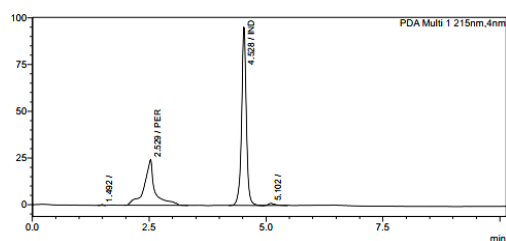
khoảng bước sóng (200-260) nm, perindopril tert-butylamin có độ hấp thu cao trong khoảng bước sóng (200-230) nm. Vì vậy bước sóng 215 nm được lựa chọn để phát hiện đồng thời 2 hoạt chất này.

3.1.2. Khảo sát pha động

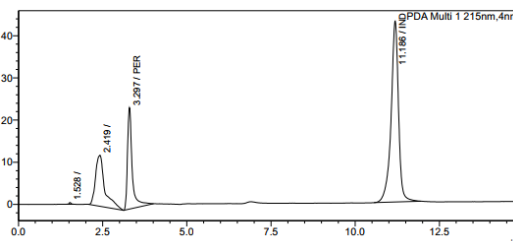
Kết quả khảo sát thành phần và tỷ lệ pha động được thể hiện qua sắc ký đồ (Hình 1) và thông số sắc ký trong (Bảng 1).

Bảng 1 Kết quả khảo sát pha động

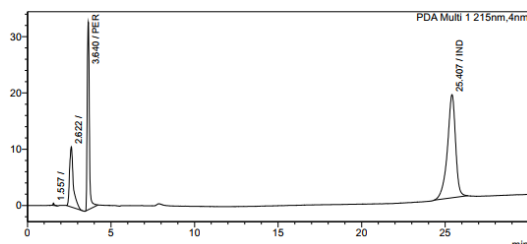
Pha động		Độ tinh khiết	Độ phân giải	Hệ số kéo đuôi
Acetonitril-nước (60:40)	PER	Đạt	2,572	1,098
	IND	Đạt	1,263	0,971
Acetonitril-nước (40:60)	PER	Không đạt	2,757	1,737
	IND	Đạt	25,366	0,872
Acetonitril-nước (30:70)	PER	Không đạt	3,424	1,195
	IND	Đạt	40,039	0,856
Acetonitril-nước acid percloric 0,01 % (30:70)	PER	Đạt	24,094	1,154
	IND	Đạt	15,349	0,863
Acetonitril-nước acid percloric 0,01 % (40:60)	PER	Không đạt	0,378	1,207
	IND	Đạt	10,054	1,031
Acetonitril-nước acid percloric 0,01 % (33:67)	PER	Đạt	6,918	1,192
	IND	Đạt	19,165	0,996



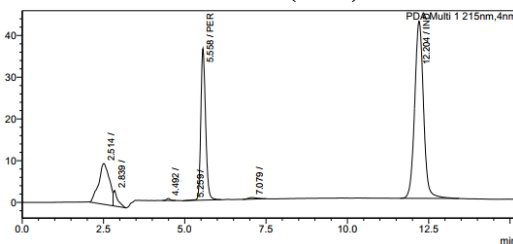
ACN - nước (60:40)



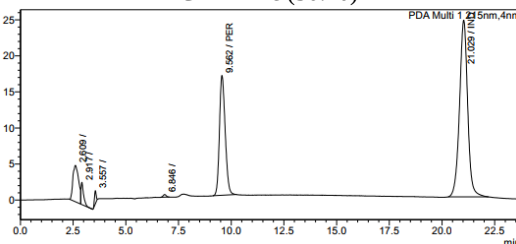
ACN - nước (40:60)



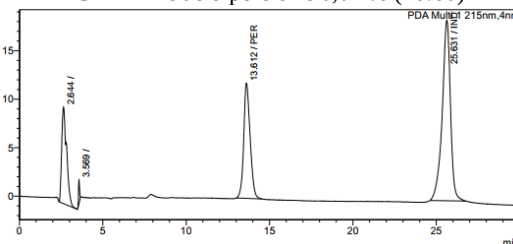
ACN - nước (30:70)



ACN - nước acid percloric 0,01 % (40:60)



ACN - nước acid percloric 0,01 % (33:67)



ACN - nước acid percloric 0,01 % (30:70)

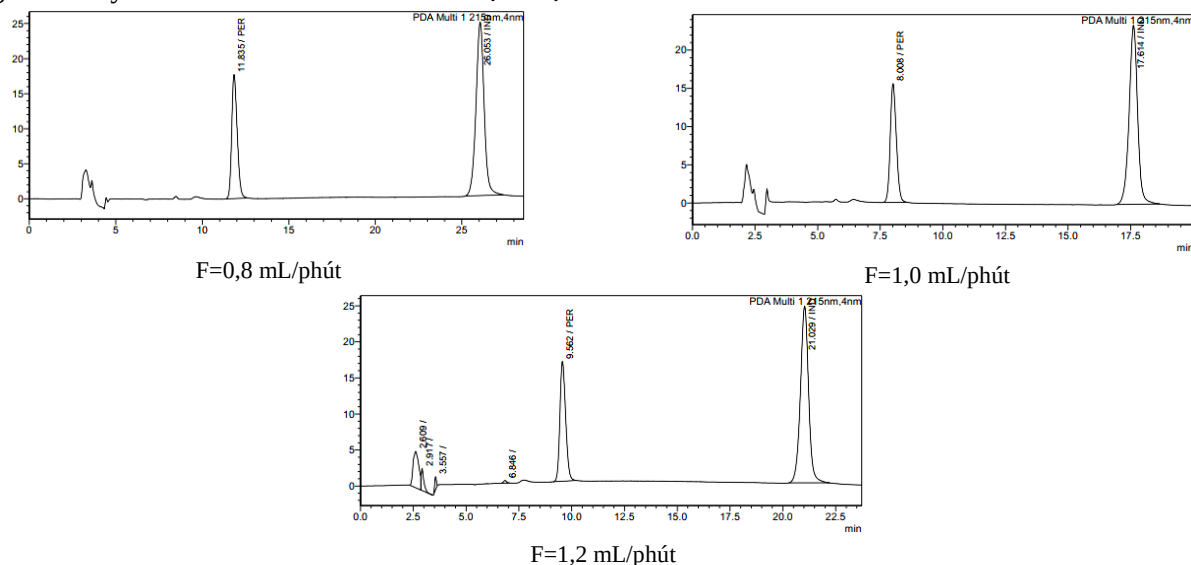
Hình 1 Sắc ký đồ dung dịch chuẩn với các pha động khác nhau

Nhận xét: ở tỷ lệ ACN-nước acid percloric 0,01 % (30:70, tt/tt), các peak hoạt chất tách nhau hoàn toàn và tách ra khỏi các peak khác trên sắc ký đồ. Peak của PER và IND được rửa giải lần lượt ở 13,612 phút và 25,631 phút, đạt độ tinh khiết và các thông số sắc ký khác. Ở tỷ lệ 33:67 (tt/tt), thời gian rửa giải của các peak hoạt chất giảm xuống so với ở tỷ lệ 30:70 (tt/tt) giúp rút ngắn thời gian sắc ký. Peak của PER và IND lần lượt được

rửa giải ở 9,562 phút và 21,029 phút, các peak vẫn tách nhau hoàn toàn, đồng thời đạt độ tinh khiết và các thông số sắc ký. Do đó, lựa chọn pha động ACN-nước acid percloric 0,01 % (33:67, tt/tt) cho các thử nghiệm tiếp theo.

3.1.3 Khảo sát tốc độ dòng

Kết quả khảo sát tốc độ dòng được thể hiện qua sắc ký đồ ở Hình 2.

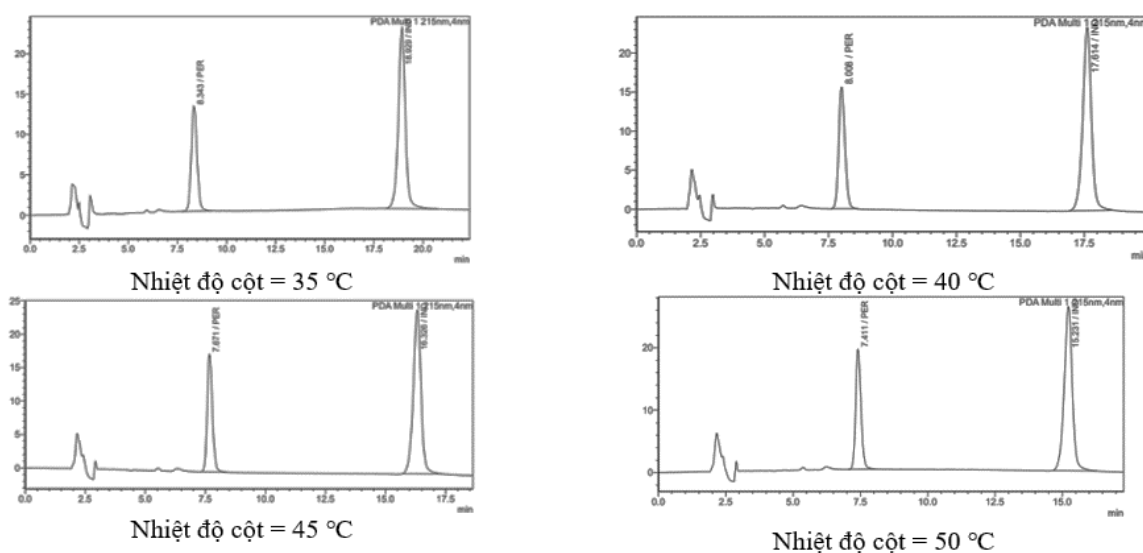


Hình 2 Sắc ký đồ của dung dịch chuẩn ở các tốc độ dòng khác nhau

Nhận xét: tốc độ dòng tăng giúp rút ngắn thời gian sắc ký mà vẫn đảm bảo được khả năng phân tích của quy trình. Vì vậy, chọn tốc độ dòng là 1,2 mL/phút cho các thử nghiệm tiếp theo.

3.1.4 Khảo sát nhiệt độ cột

Kết quả khảo sát tốc độ dòng được thể hiện qua sắc ký đồ ở Hình 3.

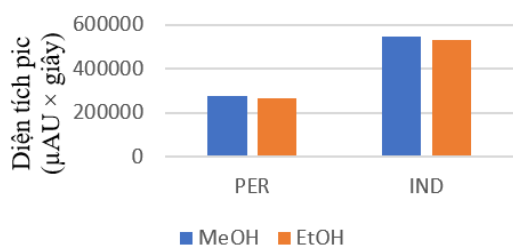


Hình 3 Sắc ký đồ của dung dịch chuẩn ở các nhiệt độ cột khác nhau

Nhận xét: khi quan sát sắc ký đồ ở các nhiệt độ khác nhau, kết quả cho thấy nhiệt độ các cột cao thì các peak hoạt chất các được rửa giải ra sớm hơn. Tuy nhiên, nếu tiến hành sắc ký trong thời gian dài ở nhiệt độ cao, có thể làm gãy các liên kết của pha tĩnh do đó vẫn lựa chọn nhiệt độ cột là 35 °C để tiến hành phân tích.

Bảng 2 Kết quả khảo sát dung môi chiết

		Diện tích peak ($\mu\text{AU} \times \text{giây}$)	Số đĩa lý thuyết	Hệ số kéo đuôi	Độ phân giải
PER	Methanol	278 669	3 102	1,080	1,281
	Ethanol	265 706	2 964	1,078	2,790
IND	Methanol	546 378	11 045	0,937	15,966
	Ethanol	533 674	10 543	0,946	15,619



Hình 4 Ảnh hưởng của dung môi chiết tới diện tích peak của PER và IND trong dung dịch thử

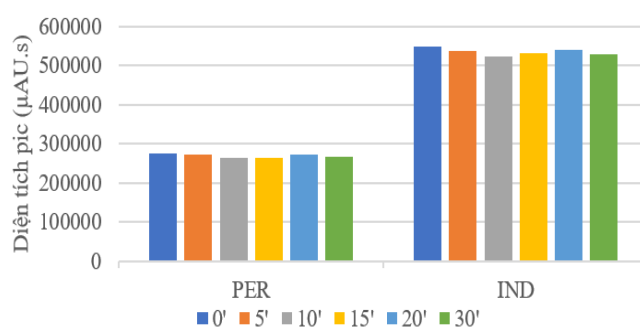
Nhận xét: khi thay đổi dung môi chiết, diện tích peak của PER và IND thay đổi không đáng kể. Tuy nhiên, sắc ký đồ của mẫu thử được chiết bằng methanol cho thấy peak của PER chưa đạt độ phân giải trong khi mẫu thử được chiết bằng ethanol cho peak của PER và IND đều đạt yêu cầu về các thông số sắc ký. Vì vậy, chọn ethanol là dung môi chiết.

3.1.6 Khảo sát thời gian siêu âm

Tiến hành sắc ký 1 lần mỗi dung dịch thử được chiết bằng ethanol như trên với thời gian siêu âm lần lượt là (0, 5, 10, 15, 20 và 30) phút. Kết quả khảo sát thời gian siêu âm được thiện qua Hình 5.

3.1.5 Khảo sát dung môi chiết

Tiến hành sắc ký 1 lần mỗi dung dịch thử được chiết bằng methanol và ethanol tương tự như Mục 2.2. Kết quả khảo sát dung môi chiết được trình bày trong Bảng 2 và Hình 4.



Hình 5 Ảnh hưởng của thời gian siêu âm tới diện tích peak của PER và IND trong dung dịch thử

Nhận xét: khi tăng thời gian siêu âm thì nồng độ PER và IND chiết xuất được thay đổi không đáng kể và các peak đều đạt yêu cầu về các thông số sắc ký. Do đó, không cần chiết siêu âm mẫu thử.

3.2 Thẩm định quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC

3.2.1 Khảo sát tính phù hợp hệ thống

Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3 Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống (n = 6)

		Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak ($\mu\text{AU} \times \text{giây}$)	Số đĩa lý thuyết	Hệ số kéo đuôi	Độ phân giải
PER	Trung bình	8,594	273 036,8	3 181,167	1,01	2,94
	SD	0,01	2 016,08			
	RSD (%)	0,16	0,74			
IND	Trung bình	18,895	580 102,2	7 250,633	0,88	14,52
	SD	0,01	2 873,81			
	RSD (%)	0,06	0,50			

Nhận xét: kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống cho thấy, giá trị RSD của thời gian lưu và diện tích peak của IND và PER đều nhỏ hơn 2,0 %, số đĩa lý thuyết lớn hơn 2 000, hệ số kéo đuôi nằm trong khoảng (0,8-1,5) và độ phân giải đều lớn hơn 1,5. Như vậy, quy trình phân tích đạt tính phù hợp hệ thống.

3.2.2 Khảo sát độ đặc hiệu

Kết quả khảo sát độ đặc hiệu cho thấy sắc ký đồ của mẫu trắng không chứa peak có thời gian lưu tương ứng với peak của PER và IND trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Sắc ký đồ của dung dịch hỗn hợp chuẩn xuất hiện 2 peak có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của peak PER và IND trong sắc ký đồ các dung dịch chuẩn riêng rẽ tương ứng. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử thêm hỗn hợp chuẩn, chiều cao và diện tích của các peak PER và IND tăng lên so với dung dịch thử. Peak PER và IND tách hoàn toàn trên sắc ký đồ

trong tất cả các mẫu. Phổ UV tại thời gian lưu của các peak PER và IND trong dung dịch thử, dung dịch thử thêm hỗn hợp chuẩn giống với phổ UV tại thời gian lưu của các peak PER và IND trong dung dịch hỗn hợp chuẩn. Sử dụng chức năng kiểm tra độ tinh khiết cho thấy peak PER và IND đạt độ tinh khiết trong tất cả các mẫu. Trong sắc ký đồ của các mẫu phân hủy, peak của PER và IND xuất hiện trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của các peak chính trong sắc ký đồ của dung dịch hỗn hợp chuẩn, 2 peak này tách nhau hoàn toàn và tách hoàn toàn khỏi các peak tạp khác và đạt độ tinh khiết trên sắc ký đồ. Như vậy quy trình đáp ứng các yêu cầu về tính đặc hiệu.

3.2.3 Khảo sát tính tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Kết quả khảo sát tính tuyến tính được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4 Kết quả khảo sát tính tuyến tính

Perindopril tert-butylamin		Indapamid	
Nồng độ (ppm)	Diện tích peak ($\mu\text{AU} \times \text{giây}$)	Nồng độ (ppm)	Diện tích peak ($\mu\text{AU} \times \text{giây}$)
10	65 543	5	226 030
20	136 104	10	450 548
40	268 601	15	667 580
50	341 931	20	900 844
80	542 834	30	1 352 309
100	673 109	35	1 555 299

Từ kết quả khảo sát thu được tiến hành xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2016, kết quả xác định được phương trình thể hiện sự tương quan giữa nồng độ và diện tích peak của PER và IND lần lượt là $y = 6758,3x$ và $y = 44590x$. Dựa vào độ lệch chuẩn và độ dốc của phương trình hồi quy tuyến tính của IND và PER, kết quả LOD, LOQ được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5 Kết quả giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

	Hệ số a	Độ lệch chuẩn SD	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
PER	6 758,3	3 008,8	1,47	4,45
IND	44 590	7 974,6	0,59	1,79

Nhận xét: từ kết quả khảo sát cho thấy, quy trình phân tích đạt tính tuyến tính trong khoảng (10-100) ppm với PER và (5-35) ppm với IND. Xác định được giới hạn phát hiện của PER và IND là 1,47 ppm và 0,59 ppm, giới hạn định lượng lần lượt là 4,45 ppm và 1,79 ppm.

3.2.4 Độ chính xác và độ đúng: kết quả khảo sát độ đúng và độ chính xác được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6 Kết quả khảo sát độ đúng và độ chính xác

		PER		IND	
Độ đúng (n = 9)	Tỷ lệ phục hồi (%)	(99,17-99,64)		(98,60-99,63)	
	RSD (%)	0,34		0,62	
Độ chính xác		Hàm lượng so với nhân (%)	RSD (%)	Hàm lượng so với nhân (%)	RSD
	Độ lặp lại (n = 6)	100,29	0,39	99,25	0,44
	Độ chính xác trung gian (n = 12)	99,78	0,90	99,21	0,71

Nhận xét: từ kết quả khảo sát cho thấy, tỷ lệ phục hồi nằm trong khoảng từ (98,0-102,0) %. Hàm lượng của PER và IND ở mỗi ngày phân tích đều có RSD < 2,0 % và kết quả định lượng ở 2 ngày khác nhau khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Do đó, quy trình đạt độ đúng và độ chính xác.

Kết quả thẩm định cho thấy, quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC đạt yêu cầu theo hướng dẫn của ICH về tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng và độ chính xác.

3.3 Ứng dụng quy trình để định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong một số mẫu viên nén trên thị trường

Tiến hành đánh giá hàm lượng perindopril tert-butylamin và indapamid trong một số chế phẩm viên nén trên thị trường bằng phương pháp HPLC theo quy trình đã xây dựng.

Bảng 7 Kết quả định lượng perindopril tert-butylamin và indapamid trong chế phẩm viên nén có trên thị trường bằng phương pháp HPLC-PDA

Mẫu	Perindopril tert-butylamin				Indapamid			
	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak ($\mu\text{AU} \times \text{giây}$)	HLN (mg)	HL (%)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak ($\mu\text{AU} \times \text{giây}$)	HLN (mg)	HL (%)
Coperil Plus	8,408	276 415	4	100,87	18,818	559 072	1,25	99,53
Prenewel	8,400	267 928	4	101,83	18,797	527 320	1,25	95,84
Bi Preterax	8,405	270 065	4	100,77	18,816	527 576	1,25	96,04

3.4 Bàn luận

Thông qua phổ UV của PER và IND cho thấy, PER có độ hấp thu cao trong khoảng bước sóng (200-230) nm còn IND có độ hấp thu cao trong khoảng bước sóng (200-260) nm. Do đó, lựa chọn bước sóng 215 nm để phát hiện đồng thời PER và IND là phù hợp với kết quả của các công trình nghiên cứu đã công bố trước đó [13-16]. Trong kỹ thuật sắc ký pha đảo (Rp-HPLC), khả năng phân tích các chất phụ thuộc vào nhiều yếu tố như loại pha tĩnh, bản chất và tỷ lệ các thành phần trong pha động, chất phân tích, ... Tùy vào bản chất của chất phân tích để lựa chọn hệ pha động phù hợp dựa trên các tài liệu tham khảo hoặc từ kết quả thực nghiệm. Dựa trên các công trình đã công bố [13, 15-18] cũng như các chuyên luận riêng của từng hoạt chất trong Dược điển [9-12] về quy trình định lượng đối tượng cần phân tích là IND và PER cho thấy, pha động để phân tích IND và PER gồm ACN và nước hoặc nước acid, có thể có hoặc không có methanol. Vì vậy, ban đầu nghiên cứu này đã lựa chọn pha động gồm ACN và nước để khảo sát. Các

Hàm lượng perindopril tert-butylamin và indapamid có trong một đơn vị chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức:

$$H(\%) = \frac{S_t}{S_c} \times \frac{m_c}{m_t} \times C \times \frac{D_t}{D_c} \times \frac{m_{tb}}{HLN} \times 100$$

Trong đó:

S_t : diện tích peak của hoạt chất trong dung dịch thử

S_c : diện tích peak của hoạt chất trong dung dịch chuẩn

m_c : Khối lượng cân của chất chuẩn (mg)

m_t : khối lượng cân của mẫu thử (mg)

C: hàm lượng % chuẩn đối chiếu tính trên chế phẩm làm khan

D_t : độ pha loãng của dung dịch thử

D_c : độ pha loãng của dung dịch chuẩn

m_{tb} : khối lượng trung bình viên (mg)

HLN: hàm lượng hoạt chất ghi trên nhãn (mg)

Kết quả được trình bày trong Bảng 7.

peak thu được có sự bất thường về hình dạng peak và vẫn chưa đạt yêu cầu về độ tinh khiết và hệ số kéo đuôi. Thay thế nước bằng nước acid perchloric 0,01 % và thay đổi tỷ lệ dung môi để khảo sát. Việc acid hóa pha động sẽ hạn chế các gốc silanol tự do trong pha tĩnh bị ion hóa gây tương tác xấu với chất phân tích từ đó cải thiện được hình dạng peak. Bên cạnh đó, khi tăng tỷ lệ acid trong pha động thì thời gian lưu của các peak hoạt chất tăng do tỷ lệ dung môi phân cực tăng làm tăng tương tác giữa chất phân tích với pha tĩnh dẫn tới các chất được rửa giải trễ hơn, tăng thời gian lưu của các chất. Tuy nhiên, các peak tách nhau tốt và đạt yêu cầu về các thông số sắc ký. Tiếp tục thay đổi các điều kiện về tốc độ dòng và nhiệt độ cột để cải thiện thời gian sắc ký. Việc tăng tốc độ dòng từ 1,0 mL/phút lên 1,2 mL/phút giúp cải thiện thời gian lưu của từng chất phân tích mà vẫn đạt yêu cầu về số đĩa lý thuyết, độ tinh khiết, hệ số kéo đuôi và độ phân giải đối với từng peak. Khi khảo sát nhiệt độ cột, kết quả cho thấy nhiệt độ cột tăng thì thời gian lưu của các peak hoạt chất và áp suất hệ thống

giảm xuống do nhiệt độ cột tăng lên sẽ làm giảm độ nhớt của pha động, giảm áp suất hệ thống và các chất được rửa giải ra sớm hơn. Tuy nhiên, việc vận hành ở nhiệt độ cao trong thời gian dài sẽ làm gây các liên kết trong pha tĩnh, đồng thời nhiệt độ càng cao thì càng ít loại cột sắc ký phù hợp. Do đó, lựa chọn 35 °C là nhiệt độ phân tích để không ảnh hưởng tới các liên kết của pha tĩnh và phù hợp với nhiều loại cột sắc ký khác nhau mà vẫn đảm bảo được các thông số sắc ký đối với từng peak hoạt chất.

Bên cạnh đó, việc lựa chọn ethanol làm dung môi chiết mẫu thử vì không ảnh hưởng tới diện tích peak của các hoạt chất mà các peak lại có độ phân giải tốt hơn so với việc sử dụng methanol làm dung môi chiết. Đồng thời, ethanol ít độc hại hơn so với methanol nên sẽ an toàn cho người sử dụng hơn. Kết quả khảo sát thời gian siêu âm cho thấy, thời gian siêu âm không ảnh hưởng tới tín hiệu của các peak thu được, do đó lựa chọn không siêu âm để đơn giản hóa quy trình xử lý mẫu.

Từ các kết quả khảo sát, đã lựa chọn được quy trình phân tích phù hợp để định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng

phương pháp Rp-HPLC với đầu dò PDA. Quy trình đã được thẩm định đạt tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ đúng và độ chính xác theo hướng dẫn của ICH.

4 Kết luận

Quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp HPLC đã được xây dựng thành công với điều kiện sắc ký như sau: cột sắc ký HiQ sil C18HS (250 mm × 4,6 mm, 5 µm), nhiệt độ cột 35 °C, đầu dò PDA, bước sóng phát hiện 215 nm, thể tích tiêm mẫu 10 µL, tốc độ dòng 1,2 mL/phút, pha động gồm acetonitril-nước acid percloric 0,01 % (33:67). Các dung dịch mẫu được hòa tan và pha loãng bằng ethanol, không cần siêu âm. Quy trình đã được thẩm định đạt tính phù hợp hệ thống; độ đặc hiệu; khoảng tuyến tính (5-35) ppm với indapamid và (10-100) ppm với perindopril tert-butylamin; độ đúng và độ chính xác theo hướng dẫn của ICH. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của indapamid là 0,59 ppm và 1,79 ppm; perindopril tert-butylamin là 1,47 ppm và 4,45 ppm.

Tài liệu tham khảo

1. Zhou, B., Perel, P., Mensah, G. A., et al. (2021). Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. *Nature Reviews Cardiology*, 18(11), 785-802. DOI:10.1038/s41569-021-00559-8
2. Bộ Y tế. (2024). Việt Nam có khoảng 12 triệu người mắc căn bệnh được coi là 'kẻ giết người thầm lặng'. https://moh.gov.vn/hoat-dong-cua-dia-phuong/-/asset_publisher/gHbla8vOQDuS/content/viet-nam-co-khoang-12-trieu-nguoi-mac-can-benh-la-ke-giet-nguoi-tham-lang-. Access date.
3. Hội Tim mạch Việt Nam. (2022). Khuyến cáo chẩn đoán và điều trị tăng huyết áp VNHA/VSH 2022. <https://hntmmtn.vn/upload/attach/202291214352.pdf>. Access date.
4. World Health Organization. (2021). Guideline for the pharmacological treatment of hypertension in adults: World Health Organization.
5. Umemura, S., Arima, H., Arima, S., et al. (2019). The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2019). *Hypertens Res*, 42(9), 1235-1481. DOI:10.1038/s41440-019-0284-9
6. Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., et al. (2020). 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines. *Journal of Hypertension*, 38(6), 982-1004. DOI:10.1097/hjh.0000000000002453
7. Lévy, B. I., & Taddei, S. (2018). Vascular legacy beyond blood pressure control: benefits of perindopril/indapamide combination in hypertensive patients with diabetes. *Current Medical Research and Opinion*, 34(9), 1557-1570. DOI:10.1080/03007995.2018.1425674
8. Chalmers, J., Mourad, J. J., Brzozowska-Villatte, R., et al. (2023). Benefit of treatment based on indapamide mostly combined with perindopril on mortality and cardiovascular outcomes: a pooled analysis of four trials. *Journal of Hypertension*, 41(3), 508-515. DOI:10.1097/hjh.0000000000003368
9. British Pharmacopoeia. (2023). In Monograph: Indapamide Tablets. *Perindopril ter-butylamine Tablets*.
10. European Pharmacopoeia. (2023). In Monograph: Indapamide Tablets. *Perindopril ter-butylamine Tablets*.
11. Xie, M., Tang, T., & Liang, H. (2023). Efficacy of single-pill combination in uncontrolled essential hypertension: A systematic review and network meta-analysis. *Clinical Cardiology*, 46(8), 886-898. DOI:10.1002/clc.24082
12. Bộ Y tế. (2018). *Chuyên luận viên nén Indapamid, viên nén Perindopril tert-butylamin*. In Dược điển Việt Nam V: Nhà xuất bản Y học.
13. Carje, A. G., Hancu, G., Muntean, D.-L., et al. (2017). Simultaneous chiral separation of perindopril erbumine and indapamide enantiomers by high performance liquid chromatography. *Farmacia*, 65(6), 900-907.
14. Patel, K. P., Chhalotiya, U. K., Kachhiya, H. M., et al. (2020). A new RP-HPLC method for simultaneous quantification of perindopril erbumine, indapamide, and amlodipine besylate in bulk and pharmaceutical dosage form. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 80. DOI:10.1186/s43094-020-00092-4
15. Saleh, S. S., Lotfy, H. M., Tiris, G., et al. (2020). Analytical tools for greenness assessment of chromatographic approaches: Application to pharmaceutical combinations of Indapamide, Perindopril and Amlodipine. *Microchemical Journal*, 159, 105557. DOI:10.1016/j.microc.2020.105557
16. Swamy, G. K., Kumar, J. R., & Rao, J. S. J. W. J. P. R. (2015). Development and validation of a novel stability indicating rphplc method for simultaneous estimation of perindopril. *Indapamide and Amlodipine in Bulk and Combined tablet Dosage forms*. 4(6), 2440-2456. DOI:
17. Dawud, E. R., & Shakya, A. K. (2019). HPLC-PDA analysis of ACE-inhibitors, hydrochlorothiazide and indapamide utilizing design of experiments. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(5), 718-728. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.10.052>
18. Mandić-Kovačević, N., Kasagić-Vujanović, I., & Popović Bijelić, A. (2023). Analysis of Fixed-Dose Combination of Three Antihypertensive Drugs by a Green and Quality by Design Approach. *Journal of Chromatographic Science*, 61(3), 256-268. DOI: 10.1093/chromsci/bmac044

Developing and validating of rp-hplc method for simultaneous quantification of indapamide and perindopril tert-butylamine in tablets

Linh Dinh Thi Lan*, Nghia Nguyen Thanh
Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University
Email: dtlinh@ntt.edu.vn

Abstract Hypertension is the world's leading cause of death. The number of people with hypertension, particularly at a young age, is constantly increasing. The proportion of patients with uncontrolled hypertension also grows due to ineffective monotherapy. Therefore, the use of fixed-dose combination drugs such as Indapamide (IND – Thiazid-like) and Perindopril tert-butylamine (PER – ACE inhibitor) has become common. However, the Pharmacopoeia from Viet Nam and from other countries do not include specific guidelines on the process of simultaneous quantification of these 2 substances. Thus, this study was conducted to develop and validate the simultaneous quantification process of Indapamide and Perindopril tert-butylamine in tablets by high-performance liquid chromatography (HPLC). A method has been developed for the simultaneous quantification of Indapamide and Perindopril tert-butylamine with mobile phase consisting of acetonitril/0.01 % perchloric acid water (33:67), HiQ sil C18HS column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm), column temperature 35 °C, flow rate 1.2 mL/min, injection 10 µl, detector PDA, and wavelength 215 nm. Sample processing conditions: ethanol extraction, no ultrasonication. The method has been validated according to the ICH guidelines, including: system suitability; specificity; linearity from (5-35) ppm and (10-100) ppm, respectively for Indapamide and Perindopril tert-butylamine ($R > 0.9999$); the detection limit and the quantitative limit for Indapamide and Perindopril tert-butylamine were 0.59 ppm and 1.79 ppm, and 1.47 ppm and 4.45 ppm respectively; accuracy (recovery rate of (98.0-102.0) %); precision (RSD < 2.0 %).

Keywords Hypertension, Indapamide, Perindopril tert-butylamine, HPLC, Validating.

Quality of life of patients with chronic renal failure on intermittent hemodialysis at Binh Dan Hospital, Ho Chi Minh City in 2024

Nguyen Van Canh

Nursing Department, Nguyen Tat Thanh University
nvcanh@ntt.edu.vn

Abstract

This study aimed to evaluate the quality of life (QoL) and related factors among patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis at Binh Dan Hospital in Ho Chi Minh City. A cross-sectional study design was used, surveying 330 patients aged 18 to 59 with the WHOQOL-BREF questionnaire, which assessed four domains: physical health, psychological well-being, social relationships, and environmental factors. The findings showed that QoL was moderate overall, with physical health (mean score of 44.2) and psychological well-being (mean score of 45.7) scoring lower than social relationships (mean score of 51.3) and environmental factors (mean score of 53.1). Age was negatively correlated with physical and psychological health, while education and income were positively associated with better social and environmental scores. Frequent dialysis and comorbidities, such as diabetes, were linked to poorer physical and psychological health. The study emphasizes the need for comprehensive care approaches that address physical, psychological, and social aspects to enhance the well-being of hemodialysis patients.

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

Received 17/08/2024
Accepted 11/10/2024
Published 28/12/2024

Keywords

quality of life,
hemodialysis,
path analysis model,
factors related

1 Introduction

Chronic kidney disease (CKD) presents a significant burden in both developed and developing countries, and Viet Nam is no exception. CKD, particularly in its final stages, is a condition where kidney function is severely compromised due to progressive damage, leading to the need for renal replacement therapy such as dialysis or transplantation [1]. Hemodialysis, one of the most common treatments for CKD, offers life-saving support by filtering waste and excess fluids from the blood, yet it also imposes numerous challenges on patients, including physical, mental, social, and financial burdens [2]. The rise of global incidence of the end-stage renal disease (ESRD) accelerates the demand for dialysis services. In

Viet Nam, the number of CKD patients undergoing routine hemodialysis is rapidly increasing, thus placing a strain on healthcare resources and significantly impacting patients' quality of life (QoL) [3]. Hemodialysis is a time-consuming and restrictive treatment modality that require patients to spend many hours on weekly therapy, often resulting in fatigue, dietary and fluid restrictions, as well as a perceived loss of independence. These factors cause a decline in patients' physical and mental well-being, as well as diminished social relationships and economic stability. Patients frequently experience psychological stress due to the dependency on caregivers and the financial strain that dialysis imposes [4].

Despite advances in medical care, including improvements in dialysis technology and protocols, many patients still report a diminished QoL. Understanding and improving the QoL for hemodialysis patients has become a critical objective for healthcare providers, as QoL is a comprehensive measure of the outcomes of treatment and patient well-being [5]. The World Health Organization Quality of Life (WHOQoL-BREF) tool is often used to assess various domains of a patient's life, including physical health, psychological well-being, social relationships, and environmental factors. Measuring QoL allows healthcare professionals to gain insights into the factors that most significantly impact patients' lives and helps in developing interventions to address these challenges [6]. Given the complex and multifaceted nature of CKD, it is crucial to identify and understand the factors that influence the QoL of patients on long-term hemodialysis. These factors include not only the direct clinical characteristics of the disease, such as the duration and frequency of dialysis, but also demographic, social, and economic variables, such as age, gender, education level, employment status, and access to healthcare. By studying these variables, we can identify key areas for intervention that may improve the overall well-being of patients and reduce the negative impact of dialysis on their daily lives [7,8]. The primary objective of this research is to evaluate the QoL and related factors among patients with chronic renal failure undergoing routine hemodialysis at a selected hospital in Viet Nam. Specific goals include: (1) Assessing the overall QoL of chronic renal failure patients on routine hemodialysis using the WHOQoL-BREF tool. (2) Identifying the relationship between QoL components (physical health, psychological well-being, social relationships, and environmental factors) and patient characteristics such as age, gender, education, and socioeconomic status. (3) Determining the impact of clinical variables such as dialysis duration, frequency, and comorbidities on QoL. (4) Proposing potential interventions or programs that could enhance the QoL of hemodialysis patients based on the findings of the study.

2 Materials and Methods

2.1 Study design: a descriptive cross-sectional study design was used for this research to evaluate the QoL and related factors among patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis. This design allowed the researchers to collect data at a single point in time, focusing on the relationships between demographic, clinical, and quality of life variables in the target population.

2.2 Research Location: the study was conducted at Binh Dan Hospital in Ho Chi Minh City, which has advanced medical equipment and a well-established hemodialysis department, serving a diverse patient population from the city and surrounding areas. The hospital's environment provided an ideal setting to conduct research on a broad and diverse group of patients with varying socioeconomic backgrounds, ensuring comprehensive data collection.

2.3 Population and Sample

2.3.1 Population: patients with chronic kidney failure are undergoing periodic dialysis by hemodialysis at Binh Dan Hospital in Ho Chi Minh City. The study targeted patients with chronic renal failure who were undergoing routine hemodialysis at the selected hospital. A purposive sampling method was used to select patients who met the following criteria: Patients aged 18 years or older, undergoing routine hemodialysis, willing and able to provide informed consent.

2.3.2 Inclusion Criteria: patients at the age of >18 with chronic renal failure undergoing regular hemodialysis. Patients with adequate communication and cognitive abilities. Patients who provided informed consent.

2.3.3 Exclusion Criteria: patients with other kidney conditions (e.g., stones, cancer). Patients with cognitive impairments or communication difficulties. Patients in emergency or urgent care situations.

Sample size

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \times \frac{SD^2}{d^2}$$

n : the desired sample size from a large population size

α : level of significance, choose $\alpha = 0.05$

$Z_{1-\alpha/2}$: two-tailed Z-score confidence level (1.96)

SD : standard deviation of variable. Value of standard deviation taken from (0.44)

d : error of the estimate (0.05)

The sample size was determined using statistical formulas with a standard deviation of 0.44 and a 5% margin of error. After accounting for a 10% attrition rate, the study aimed to include 330 patients.

Data were collected over a three-month period, from March 1, 2024, to June 1, 2024.

2.4 Research Instrument

The WHOQoL-BREF questionnaire was used to assess the QoL of hemodialysis patients. This standardized tool includes 26 questions covering four domains of life: physical health (7 items), psychological health (6 items), social relationships (3 items), and environment (8 items)[12]. Each item is rated on a 5-point Likert scale, with higher scores reflecting better quality of life. In addition to WHOQoL-BREF, demographic and clinical information was collected, including age, gender, educational level, and dialysis frequency.

2.5 Ethical Safeguards

All personal information and data were collected, kept confidential, used solely for the purposes of the research, and not disclosed without the consent of the participants. The research team acted with the utmost care to ensure no harm came to the patients, always respect and prioritize their health. Participants were informed that they could ask any questions directly to the researchers and allowed to withdraw from the study at any time without a reason.

2.6 Data Analysis

The data collected from the WHOQoL-BREF and patient demographics were entered into SPSS (version 22.0) for analysis. Descriptive statistics, including means, frequencies, and percentages, were calculated to describe the sample's characteristics. Pearson's correlation analysis was used to explore the relationships between variables such as age, gender, and clinical characteristics with quality of life scores. Additionally, multiple regression analysis was performed to determine which factors most significantly influenced the QoL in hemodialysis patients. The results of this analysis helped identify key predictors and informed the development of recommendations for improving patient care.

3 Results

The study on the QoL of 330 chronic kidney failure patients undergoing regular hemodialysis at a hospital. Data analysis and processing yielded the following key results:

Table 1 Demographic and Clinical Characteristics of the Study Population

Variable	Category	Count (n = 330)	Percentage (%)
Gender	Male	257	77.9
	Female	73	22.1
Age Group (years)	55-59	116	35.2
	50-54	94	28.5
	45-49	45	13.6
	40-44	29	8.8
	35-39	28	8.5
	30-34	12	3.6
	25-29	6	1.8
Marital Status	Married	253	76.7
	Single	60	18.2
	Divorced	17	5.2
Education	Graduate	289	87.6
	Intermediate	21	6.4
	High School	7	2.1
	Primary School	8	2.4
Occupation	Worker	259	78.5
	Freelance Labor	13	3.9
	Unemployed	9	2.7
	Retired	44	13.3
Economic Status	Wealthier	57	17.3
	Medium	226	68.5
	Poor	47	14.2

The results show that the majority of participants are male (77.9%), which is consistent with research indicating that male patients are more frequently affected by chronic kidney disease (CKD) and are more likely to undergo hemodialysis. The most common age group is (55-59) years (35.2%), followed by (50-54) years (28.5%), indicating that middle-aged and older adults form the largest portion of the population. Most patients are married (76.7%), which could be reflective of stable support systems at home. A significant portion of the participants have a graduate-level education

(87.6%), suggesting a higher educational background compared to the general population in similar studies. The majority of patients are employed, primarily as workers (78.5%), which could impact their overall quality of life as they continue to contribute economically despite their health condition. Most of the patients fall into the medium-income category (68.5%), with a smaller percentage identifying as wealthier (17.3%) or poor (14.2%). These demographic trends align with previous literature which suggests that male patients, particularly those in middle to older age groups, are more likely to undergo hemodialysis for CKD. Moreover, the relatively high level of education and employment among the patients suggests that they may have greater access to healthcare resources and support systems. This demographic profile provides valuable context for understanding how these factors may influence quality of life outcomes among this population are presented in Table 1.

Table 2 Mean Scores of QoL Domains for Hemodialysis Patients

Domain	Mean Score ($\pm$ SD)	Interpretation
Physical Health	44.2 $\pm$ 9.1	Moderate
Psychological Well-being	45.7 $\pm$ 8.7	Moderate
Social Relationships	51.3 $\pm$ 10.4	Fairly Good
Environmental Factors	53.1 $\pm$ 11.2	Fairly Good

(Very Poor: 0-20, Poor: 21-40, Moderate: 41-60, Fairly Good: 61-80, Very Good: 81-100)

The results indicate that while patients report moderate levels of physical and psychological health, they tend to experience better outcomes in terms of social relationships and environmental factors. This may highlight the role of support systems and living conditions in maintaining a better QoL for hemodialysis patients. Older age was associated with lower physical and psychological health scores ($r = -0.32$, $p < 0.05$), indicating that as patients age, their physical and mental health tend to decline. Higher educational levels and income were positively correlated with better environmental and social scores ($r = 0.29$, $p < 0.01$), suggesting that patients with more resources and education tend to experience better

quality of life in these domains. No significant correlation was found between gender and QoL scores across all domains, meaning that both male and female patients have similar experiences regarding their quality of life. In conclusion, the study reveals the significant impact of age, education, and socioeconomic status on the quality of life of hemodialysis patients, particularly in the physical, psychological, social, and environmental domains. Gender, however, does not seem to significantly affect the QoL outcomes are presented in Table 2.

Table 3 Relationship of Patient Characteristics with QoL Components

Variable	Physical Health	Psychological Well-being	Social Relationships	Environmental Factors
Age	-0.32*	-0.28*	0.15	-0.12
Gender	0.05	0.08	0.12	0.06
Education	0.18*	0.19*	0.22**	0.29**
Socioeconomic Status	0.21*	0.15*	0.25**	0.30**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

The results negatively relationship with physical health ($r = -0.32$, $p < 0.05$) and psychological well-being ($r = -0.28$, $p < 0.05$), indicating that older patients tend to have lower scores in these domains. No significant impact on any QoL component. Positively correlated with all domains, showing stronger relationships with social relationships ($r = 0.22$, $p < 0.01$) and environmental factors ($r = 0.29$, $p < 0.01$), suggesting that higher education levels contribute to better quality of life in these areas. Positively associated with all QoL components, with the strongest effect on environmental factors ($r = 0.30$, $p < 0.01$), indicating that patients with better socioeconomic status experience a higher QoL, particularly regarding their environment and social relationships. Multiple Regression Analysis: patients undergoing dialysis three or more times per week reported significantly lower physical health scores ($\beta = -0.35$, $p < 0.01$). Patients with comorbid conditions (e.g., diabetes, hypertension) had significantly lower psychological well-being ($\beta = -0.29$, $p < 0.01$). These findings emphasize that more

frequent dialysis and the presence of comorbidities can have a negative impact on certain aspects of quality of life are presented in Table 3

Table 4 Impact of Clinical Variables on QoL

Variable	Physical Health (β)	Psychological Well-being (β)	Social Relationships (β)	Environmental Factors (β)
Dialysis Frequency ($\geq 3x$)	-0.35**	-0.15	-0.10	-0.12
Comorbid Conditions	-0.25*	-0.29**	-0.15*	-0.18*
Duration of Dialysis (>2y)	-0.22*	-0.20*	0.12	0.15*

*p < 0.05, **p < 0.01

The results Patients undergoing more frequent dialysis reported significantly lower physical health scores ($\beta = -0.35$, $p < 0.01$), indicating a substantial negative impact on physical well-being. Psychological well-being, social relationships, and environmental factors also showed minor negative correlations, but they were not statistically significant. The presence of comorbidities like diabetes and hypertension significantly affected both physical health ($\beta = -0.25$, $p < 0.05$) and psychological well-being ($\beta = -0.29$, $p < 0.01$). These conditions also had a negative impact on social relationships and environmental factors. Longer dialysis duration negatively impacted physical health ($\beta = -0.22$, $p < 0.05$) and psychological well-being ($\beta = -0.20$, $p < 0.05$). Based on the findings, interventions that address both physical and psychological health are essential. Programs focused on mental health support, physical rehabilitation, and nutritional guidance could improve patients' well-being. Additionally, social interventions, such as family and community engagement programs, could enhance social relationships. Improving access to healthcare services and enhancing living conditions may further boost the environmental quality of life for hemodialysis patients are presented in Table 4.

4 Discussion

The present study revealed that patients undergoing routine hemodialysis experience a moderate QoL across physical, psychological, social, and environmental domains. These findings align with previous studies, such as those conducted in Viet Nam, which reported similar QoL scores of 43.9 ± 19.0 [2]. The physical health domain was notably affected, with patients frequently experiencing fatigue, pain, and restricted mobility, similar to other studies that reported low physical health scores (40.17 ± 17.05) [4]. Psychological health was also a significant concern, with many patients reporting anxiety, depression, and emotional stress. This finding is supported by studies indicating that 45% of patients had psychiatric comorbidities, primarily depression and anxiety [6]. These mental health challenges, often exacerbated by dependency on dialysis and caregivers, highlight the need for mental health interventions in this patient group. Social relationships and environmental factors, while more positive, still demonstrated the strain that hemodialysis places on personal relationships and daily living [8]. Financial pressures and loss of independence further contribute to a diminished QoL. This study reinforces the need for a holistic approach to patient care, addressing both the physical and psychological burdens of hemodialysis, as emphasized in global and local studies [9].

5 Conclusion

This study assessed the QoL of patients with chronic renal failure undergoing routine hemodialysis using the WHOQoL-BREF tool, revealing that overall QoL is moderate. Physical health and psychological well-being scored lower than social relationships and environmental factors, indicating that while patients manage social and environmental challenges relatively well, they face significant physical and mental health burdens. The study found that older patients and those with lower education levels or socioeconomic status had poorer QoL, particularly in the physical and psychological domains. In contrast, higher education and better economic standing were associated with improved QoL, particularly in social and

environmental aspects. Gender did not significantly affect QoL scores. Clinical factors such as the frequency of dialysis and the presence of comorbidities, like diabetes and hypertension, significantly impacted QoL. Patients undergoing more frequent dialysis sessions and those with chronic conditions reported lower physical and psychological health, underscoring the strain of intensive treatment schedules and multiple health issues. The study

suggests targeted interventions to enhance QoL, including programs to improve physical health through rehabilitation, address mental health through counseling and support, and provide nutritional guidance. Enhancing social support systems and improving access to healthcare services are also essential for promoting a better living environment for these patients.

References

1. A Lim, K., & Hee Lee, J. (2022). Factors Affecting Quality of Life in Patients Receiving Hemodialysis. *Iranian Journal of Public Health*, 51(2), 355-363. <https://doi.org/10.18502/ijph.v51i2.8688>
2. Pham Minh, K., Đức, C., Trung, H., & Dung, L. (2022). Một số yếu tố liên quan đến chất lượng cuộc sống của bệnh nhân suy thận mạn lọc máu chu kỳ tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Tĩnh năm 2020. *Tạp chí Y học Dự phòng*, 32, 35-41. <https://doi.org/10.51403/0868-2836/2022/529>
3. Brito, D. C. S. de, Machado, E. L., Reis, I. A., Carmo, L. P. de F. do, & Cherchiglia, M. L. (2019). Depression and anxiety among patients undergoing dialysis and kidney transplantation: A cross-sectional study. *Sao Paulo Medical Journal = Revista Paulista De Medicina*, 137(2), 137-147. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2018.0272280119>
4. Buur, L. E., Madsen, J. K., Eidemak, I., Krarup, E., Lauridsen, T. G., Taasti, L. H., & Finderup, J. (2021). Does conservative kidney management offer a quantity or quality of life benefit compared to dialysis? A systematic review. *BMC Nephrology*, 22(1), 307. <https://doi.org/10.1186/s12882-021-02516-6>
5. Goh, Z. S., & Griva, K. (2018). Anxiety and depression in patients with end-stage renal disease: Impact and management challenges - a narrative review. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 11, 93-102. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S126615>
6. Jin, D. C., Ha, I. S., Kim, N. H., Lee, S. W., Lee, J. S., Yoon, S. R., & Kim, B. S. (2012). Brief Report: Renal replacement therapy in Korea, 2010. *Kidney Research and Clinical Practice*, 31(1), 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.krcp.2012.01.005>
7. Lương C. M., Nguyễn T. B., Võ Đ. C., & Nguyễn D. P. (2022). Tỷ lệ rối loạn lo âu và các yếu tố liên quan ở người bệnh chạy thận nhân tạo tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương năm 2021. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 515(2), Article 2. <https://doi.org/10.51298/vmj.v515i2.2745>
8. Masià-Plana, A., Juvinyà-Canal, D., Suñer-Soler, R., Sitjar-Suñer, M., Casals-Alonso, C., & Mantas-Jiménez, S. (2022). Pain, Anxiety, and Depression in Patients Undergoing Chronic Hemodialysis Treatment: A Multicentre Cohort Study. *Pain Management Nursing: Official Journal of the American Society of Pain Management Nurses*, 23(5), 632-639. <https://doi.org/10.1016/j.pmn.2022.03.005>
9. Nguyễn, T. T. H., Lê, T. T., Tô, M. T., Nguyễn, C. C., & Cao, T. D. (2020). Chất lượng cuộc sống của người bệnh chạy thận nhân tạo chu kỳ sau giáo dục sức khỏe tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Thái Bình năm 2020. *Tạp chí Khoa học Điều dưỡng*, 3(3), Article 3.

10. Brevik, L. M. (2022). The Emergent Multiphase Design: Demonstrating a fully integrated approach in the context of language research in education. In *The Routledge Handbook for Advancing Integration in Mixed Methods Research*. Routledge.
11. Floria, I., Kontele, I., Grammatikopoulou, M. G., Sergeantanis, T. N., & Vassilakou, T. (2022). Quality of Life of Hemodialysis Patients in Greece: Associations with Socio-Economic, Anthropometric and Nutritional Factors. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(22), 15389. <https://doi.org/10.3390/ijerph192215389>
12. Skevington, S. M., Lotfy, M., O'Connell, K. A., & WHOQOL Group. (2004). The World Health Organization's WHOQOL-BREF quality of life assessment: Psychometric properties and results of the international field trial. A report from the WHOQOL group. *Quality of Life Research: An International Journal of Quality of Life Aspects of Treatment, Care and Rehabilitation*, 13(2), 299-310. <https://doi.org/10.1023/B:QURE.0000018486.91360.00>

Chất lượng cuộc sống của bệnh nhân suy thận mạn đang chu kỳ chạy thận nhân tạo tại Bệnh viện Bình Dân, Thành phố Hồ Chí Minh năm 2024

Nguyễn Văn Cảnh

Khoa Điều dưỡng, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành
nvcanh@ntt.edu.vn

Tóm tắt Nghiên cứu này nhằm đánh giá chất lượng cuộc sống (QoL) và các yếu tố liên quan ở bệnh nhân suy thận mạn đang chạy thận nhân tạo tại Bệnh viện Bình Dân, Thành phố Hồ Chí Minh. Thiết kế nghiên cứu cắt ngang được sử dụng, khảo sát 330 bệnh nhân từ 18 tuổi đến 59 tuổi bằng bảng câu hỏi WHOQOL-BREF, bao gồm bốn lĩnh vực: sức khỏe thể chất, sức khỏe tâm lý, các mối quan hệ xã hội và các yếu tố môi trường. Kết quả cho thấy QoL tổng thể ở mức trung bình, với sức khỏe thể chất (điểm trung bình 44,2) và sức khỏe tâm lý (điểm trung bình 45,7) thấp hơn so với các mối quan hệ xã hội (điểm trung bình 51,3) và các yếu tố môi trường (điểm trung bình 53,1). Tuổi tác có mối tương quan tiêu cực với sức khỏe thể chất và tâm lý, trong khi trình độ học vấn và thu nhập có mối liên hệ tích cực với điểm số cao hơn trong các lĩnh vực xã hội và môi trường. Chạy thận nhân tạo thường xuyên và bệnh lý kèm theo, như tiểu đường, có liên quan đến sức khỏe thể chất và tâm lý kém hơn. Nghiên cứu nhấn mạnh sự cần thiết của các phương pháp chăm sóc toàn diện, giải quyết các khía cạnh thể chất, tâm lý và xã hội để nâng cao chất lượng cuộc sống của bệnh nhân chạy thận nhân tạo.

Từ khóa Chất lượng cuộc sống, chạy thận nhân tạo, mô hình phân tích đường dẫn, các yếu tố liên quan.

Khảo sát đặc điểm trẻ viêm phổi có huyết thanh chẩn đoán *Mycoplasma pneumoniae* dương tính tại Bệnh viện Nhi Đồng 2

Nguyễn Thị Thủy Tiên*, Nguyễn Trần Ngọc Quỳnh, Nguyễn Thị Thu Linh, Nguyễn Quốc Huy Thịnh, Bùi Thảo Trâm

Khoa Y, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*ntttien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Mycoplasma pneumoniae (*M. pneumoniae*) là tác nhân gây viêm phổi thường gặp ở trẻ em. Chẩn đoán bằng PCR có độ nhạy cao nhưng không phải luôn có sẵn nên huyết thanh đang được sử dụng thay thế. Nghiên cứu này khảo sát đặc điểm trẻ viêm phổi có IgM *M. pneumoniae* dương tính tại Bệnh viện Nhi Đồng 2 trong 3 tháng cuối năm 2023, ghi nhận 65 trẻ thỏa tiêu chuẩn nhận vào nghiên cứu. Kết quả cho thấy độ tuổi tập trung trong khoảng 3 tuổi đến 12 tuổi, không có sự chênh lệch về giới tính. Trẻ có triệu chứng ho (87,7 %), sốt (75,4 %) và triệu chứng tiêu hóa như buồn nôn, nôn cũng thường gặp (33,9 %). Khi thăm khám, 87,7 % trẻ có rale ẩm ở phổi. Không ghi nhận bất thường số lượng bạch cầu nhưng CRP > 20 mg/L lại gặp ở hơn ½ dân số (55,4 %), tổn thương X-Quang ghi nhận tổn thương ở thùy dưới phổi phải (40 %), siêu âm màng phổi ghi nhận hình ảnh đông đặc nhu mô phổi ở 60 % trẻ. Macrolide và cephalosporin thế hệ 3 thường sử dụng để điều trị ban đầu, sau đó 15,4 % trẻ được chuyển sang levofloxacin. Thời gian nằm viện trung bình là $(9 \pm 4,95)$ ngày và 100 % trẻ thuyên giảm bệnh khi xuất viện, không có tử vong trong lô nghiên cứu.

Nhận 23/09/2024

Được duyệt 30/10/2024

Công bố 28/12/2024

Từ khóa

viêm phổi, *Mycoplasma pneumoniae*, trẻ em, Nhi Đồng 2, IgM *Mycoplasma pneumoniae*

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Viêm phổi là bệnh lý thường gặp ở trẻ em, là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở trẻ em Việt Nam và thế giới, đặc biệt ở những nước đang phát triển. Trong số các tác nhân gây bệnh, *M. pneumoniae* là tác nhân phổ biến gây viêm phổi ở trẻ em từ (2-18) tuổi (45,3 %) [1]. Các nghiên cứu lâm sàng gần đây cho thấy viêm phổi do *M. pneumoniae* có xu hướng xuất hiện ở trẻ nhỏ hơn, đi kèm với sự gia tăng các trường hợp kháng trị, biến chứng đa cơ quan, từ đó gây ra mối đe dọa đáng kể đối với sức khỏe trẻ em [1-3]. Để giảm thiểu tình trạng này, cần chẩn đoán nhanh và sớm nhiễm *M. pneumoniae* để bắt đầu điều trị bằng kháng

sinh thích hợp, các thách thức bao gồm: tỷ lệ lây nhiễm tương đối cao ở trẻ em không có triệu chứng, sự không có sẵn của các phương pháp xác định chính xác có *M. pneumoniae* trong phổi và tình trạng gia tăng *M. pneumoniae* đề kháng macrolide trên toàn thế giới [4]. Việc xác định có nhiễm *M. pneumoniae* tại phổi thông qua PCR hay các môi trường nuôi cấy đặc biệt cần có đội ngũ chuyên môn được đào tạo và máy móc đắt tiền nên đôi khi không có sẵn, vì vậy phương pháp sử dụng huyết thanh bằng cách phát hiện nồng độ IgM đặc hiệu *M. pneumoniae* có thể được sử dụng để chẩn đoán. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào chỉ ra những đặc điểm của trẻ viêm phổi có huyết thanh chẩn đoán *M. pneumoniae* dương tính được thực hiện tại Bệnh viện

Nhi Đồng 2 (BVND2) nói riêng và Việt Nam nói chung. Do đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định các “Đặc điểm trẻ viêm phổi có huyết thanh chẩn đoán *M. pneumoniae* dương tính” tại BVND2.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Trẻ em từ 2 tháng đến 16 tuổi được chẩn đoán viêm phổi cộng đồng có huyết thanh chẩn đoán *M. pneumoniae* dương tính được nhập viện để điều trị tại Khoa Hô hấp 1 BVND2.

Tiêu chuẩn lựa chọn: trẻ em từ 2 tháng đến 16 tuổi được chẩn đoán viêm phổi cộng đồng có huyết thanh chẩn đoán *M. pneumoniae* dương tính, mã ICD-10: J18, J18.0, J18.1

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân có bệnh đồng mắc, nhiễm trùng bệnh viện

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế theo phương pháp hồi cứu, mô tả cắt ngang thông qua hồ sơ bệnh án tại Khoa Hô hấp 1 của BVND2 từ ngày 01/1/2023 đến ngày 31/12/2023 đã lập ra danh sách bao gồm 65 trẻ được chẩn đoán viêm phổi cộng đồng thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn. Danh sách thu thập được nhập và phân tích bằng phần mềm SPSS 20.2.

2.3 Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang nên chỉ quan sát, thu thập các thông tin và không can thiệp vào quá trình điều trị bệnh nhân. Tất cả bệnh nhân trong nghiên cứu đều được chẩn đoán và điều trị đúng theo quy trình điều trị của bệnh viện. Tên của bệnh nhân được viết tắt và hồ sơ dữ liệu được mã hóa, thông tin từ hồ sơ của trẻ được bảo mật. Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng Y đức của Khoa Y Đại học Nguyễn Tất Thành và Hội đồng Y đức của BVND2.

3 Kết quả nghiên cứu và bàn luận

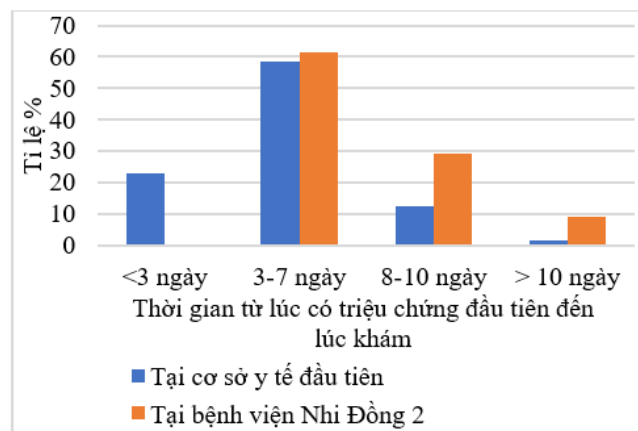
3.1 Đặc điểm lâm sàng

Bảng 1 Tỷ lệ các đặc điểm dịch tễ của đối tượng nghiên cứu

Biến số	Số ca (n = 65) và tỷ lệ %
Tuổi (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)	5,89 $\pm$ 3,50
0 đến < 3	16 (24,6)

3-12	47 (72,3)
> 12	2 (3,1)
Giới tính	
Nam	31 (47,7)
Nữ	34 (52,3)
Tiêm chủng không đầy đủ	32 (49,2)

Độ tuổi trung bình lúc nhập viện là (5,89 $\pm$ 3,50) năm tuổi, tập trung từ 3 tuổi đến dưới 12 tuổi, kết quả có tính tương đồng với nghiên cứu tại Israel của Gordon và cộng sự với độ tuổi trung bình là 5,7 tuổi, tập trung ở trẻ < 6 tuổi (51,3 %), hay nghiên cứu tại Việt Nam của Phạm Thu Hiền phổ biến nhất là độ tuổi đi học từ 5 tuổi đến 14 tuổi [3, 5]. Không có sự chênh lệch về giới tính nam : nữ $\approx$ 1:1. Khoảng 50 % trẻ không được tiêm chủng đầy đủ, hiện chưa có nghiên cứu cho thấy tiền căn tiêm chủng ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm.



Hình 1 Thời gian từ lúc có triệu chứng đầu tiên đến khi khám tại cơ sở y tế đầu tiên và BVND2

Thời gian trẻ có triệu chứng và đi khám hơn 50 % là (3-7) ngày từ lúc có triệu chứng đầu tiên (58,5 % tại cơ sở y tế đầu tiên, 61,5 % khám tại BVND2).

Bảng 2 Tình trạng sử dụng kháng sinh trước khi nhập BVND2

Biến số	Số ca (n = 65) và tỷ lệ %
Đã sử dụng kháng sinh	57 (87,7)
Chưa sử dụng kháng sinh	8 (1,3)
Số ngày sử dụng kháng sinh (Trung vị (tứ phân vị))	4 (3-5)
Sử dụng 1 kháng sinh	18 (27,7)
Amoxicillin $\pm$ Acid clavulanic	6 (9,2)
Cephalosporin thế hệ 3	2 (3,1)

Clarithromycin/ Azithromycin	4 (6,2)
Levofloxacin	4 (6,2)
Ciprofloxacin	1 (1,5)
Cefixim	1 (1,5)
Phối hợp từ 2 kháng sinh trở lên	19 (29,2)
Phối hợp macrolide	14 (21,5)
+ Amoxicillin ± Acid clavulanic	8 (12,3)
+ Amoxicillin ± Acid clavulanic + Levofloxacin	1 (1,5)
+ Ceftriaxone	3 (4,6)
Phối hợp kèm kháng sinh khác	2 (3,1)
Không phối hợp với macrolide	5 (7,7)
Ceftriaxone + Vancomycin	2 (3,1)
Ceftriaxone + không rõ	1 (1,5)
Meropenem + Amikacin	1 (1,5)
Cefepim + Gentamycin	1 (1,5)
Điều trị kháng sinh nhưng không ghi nhận được thông tin và số lượng thuốc	20 (30,8)

Trước khi nhập BVND2 điều trị, phần lớn trẻ đã được điều trị kháng sinh ngoại trú trung bình 4 ngày, trong đó 75 % điều trị trong 5 ngày. Amoxicillin ± acid clavulanic được sử dụng nhiều hơn so với các nhóm còn lại trong cả điều trị ban đầu với 1 nhóm kháng sinh (9,2 %) và phối hợp kháng sinh (13,8 %), macrolide được chọn để phối hợp điều trị hầu hết các trường hợp sử dụng từ hai nhóm kháng sinh trở lên (21,5 %). Có ít nhất 8 trẻ đã được nhập viện tuyến dưới và điều trị kháng sinh tĩnh mạch trước khi nhập BVND2.

Bảng 3 Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Biến số	Số ca (n = 65) và tỷ lệ %
Lý do nhập viện	
Sốt	49 (75,4)
Ho	57 (87,7)
Thở mệt	3 (4,6)
Khò khè	4 (6,2)
Triệu chứng kèm theo	
Sang thương da	2 (3,1)
Triệu chứng tiêu hóa	22 (33,9)
Đau nhức cơ	0 (0)
Đau ngực	6 (9,2)

Triệu chứng thực thể	
Suy hô hấp	3 (4,6)
Sốt	
Không sốt	12 (18,5)
Sốt cao ($\geq 39^{\circ}\text{C}$)	22 (33,8)
Sốt vừa (38°C đến $< 39^{\circ}\text{C}$)	19 (29,2)
Sốt nhẹ ($37,5^{\circ}\text{C}$ đến 38°C)	12 (18,5)
Mạch nhanh theo tuổi	41 (56,9)
Thở nhanh theo tuổi	49 (72,3)
Co kéo cơ hô hấp phụ	39 (60)
Tình trạng dinh dưỡng	
Bình thường	41 (63,1)
Bất thường	24 (36,9)
Tại phổi	
Rale nổ	14 (21,5)
Rale ẩm	57 (87,7)
Rale ngáy	12 (18,5)
Không rale	5 (7,7)
Giảm âm phế bào	17 (26,2)
Ngoài phổi	0 (0)

Thời gian từ lúc có triệu chứng đầu tiên đến lúc nhập BVND2 trung bình là 7 ngày với triệu chứng khởi phát đầu tiên là ho, sốt, và cũng chính là lý do nhập viện chủ yếu: ho (87,7 %), sốt (75,4 %), bên cạnh đó triệu chứng tiêu hóa gặp ở 33,9 %, các triệu chứng khác ít gặp hơn. Nghiên cứu tại Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn của Phạm Văn Hòa đã cho thấy ho chiếm 100 %, sốt chiếm 78,15 %, triệu chứng kèm theo phổ biến là triệu chứng đường tiêu hóa (17,65 %) hay gặp là triệu chứng tiêu chảy và sang thương da (9,24 %) các triệu chứng như đau đầu, đau ngực ít gặp hơn [6]. Các nghiên cứu khác tại Việt Nam cũng cho kết quả tương tự [5, 7].

Triệu chứng thực thể thường gặp nhất là sốt vừa đến sốt cao (63 %), rale ẩm ở phổi (88,7 %), nhịp thở và mạch nhanh theo tuổi (72,3 %), tình trạng rối loạn dinh dưỡng gặp ở 1/3 trường hợp, trong đó thừa cân (9,2 %), nhẹ cân (9,2 %), gầy mòn (4,6 %), thấp còi (13,8 %). Thời gian sốt trung bình 5 ngày, 75 % trường hợp sốt 7 ngày trước khi nhập viện, thời gian sốt trung bình kéo dài là 10 ngày cũng được ghi nhận ở nghiên cứu của Yeon Jin Cho tại Hàn Quốc [8]. Sốt vừa đến sốt cao chiếm (29,2-33,8) %, nhiệt độ đo được cao nhất theo bệnh sử ghi nhận ($38,5 \pm 0,73$) $^{\circ}\text{C}$. So sánh với các nghiên cứu tại

Việt Nam cho thấy rale ẩm nổi ghi nhận ở 75 % trường hợp, thở nhanh chiếm 43,3 %, rút lõm lồng ngực 16,7 %, không rale 28,3 % [9] hoặc rale ẩm 65,12 % [5].

Suy hô hấp có 3 trường hợp được ghi nhận phù hợp với kết quả một số nghiên cứu tại Việt Nam ở một số điểm như gặp ở trẻ < 5 tuổi, không ghi nhận ở trẻ lớn hơn, các triệu chứng thở nhanh, rút lõm lồng ngực, rale ở phổi hầu hết có ở các bệnh nhân viêm phổi nặng *Mycoplasma pneumonia* [6, 10].

3.2 Đặc điểm cận lâm sàng

Bảng 4 Đặc điểm cận lâm sàng

Biến số	Số ca (n = 65) và tỷ lệ %
Bạch cầu trong máu (lần đầu tiên) (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)	11,53 $\pm$ 8,48
Tăng so với tuổi	19 (29,2)
Giảm so với tuổi	2 (3,1)
Trong giới hạn bình thường	44 (67,7)
CRP (mg/L) (trung vị (khoảng tứ phân vị))	25,3 (9,9-51,5)
< 5	9 (13,8)
5-20	20 (30,8)
> 20	36 (55,4)
Hình ảnh tổn thương trên XQ	
Tổn thương thùy, phân thùy	54 (83,1)
Thùy phải	35 (53,8)
Trên	5 (7,7)
Dưới	26 (40)
Giữa	4 (6,2)
Thùy trái	17 (26,2)
Trên	7 (10,8)
Dưới	10 (15,4)
Phổi hợp hai thùy	2 (3,1)
Tổn thương lan tỏa	11 (16,9)
Siêu âm màng phổi	42 (64,6)
Tổn thương đồng đặc	39 (60)
Tổn thương mô kẽ	1 (1,5)
Tràn mủ màng phổi	1 (1,5)
Tràn dịch màng phổi	2 (3,1)
Không thấy hình ảnh tổn thương	2 (3,1)

Số lượng bạch cầu trung bình (11,53 $\pm$ 8,48) G/L, đa số trong giới hạn bình thường. CRP > 20 mg/L chiếm 55,4 %, kết quả cũng tương đồng khi so sánh với các nghiên cứu tương tự như Phạm Văn Hòa (> 20 mg/L chiếm 29,42 %) [6].

Tổn thương trên X-Quang ngực thẳng phổ biến nhất là tổn thương thùy, phân thùy chiếm 37 % còn lại là tổn thương thâm nhiễm nốt, lưới hoặc mờ rốn phổi, số liệu nghiên cứu này có nét tương đồng với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thành Nam, cho thấy tổn thương đa số ở một thùy phổi, chủ yếu ở thùy dưới phổi phải (32,2 %) và thùy dưới phổi trái (27,1 %), nhưng cũng có tác giả cho thấy tổn thương phổi thùy, phân thùy gặp nhiều ở trẻ $\geq$ 5 tuổi, chủ yếu ở thùy dưới cả hai phổi [6, 9]. Siêu âm màng phổi đa số là hình ảnh tổn thương đồng đặc phổi (64,6 %), hiện chưa ghi nhận được nghiên cứu có kết quả siêu âm màng phổi trên viêm phổi *M. pneumoniae* để so sánh kết quả.

Từ những dấu hiệu lâm sàng và cận lâm sàng có nhiều điểm tương đồng với các nghiên cứu trẻ viêm phổi do *M. pneumoniae* khác trong và ngoài nước được sử dụng PCR làm tiêu chuẩn chẩn đoán, các trẻ trong lô nghiên cứu này được chỉ định IgM *M. pneumoniae* để xác nhận lại. Kết quả dương tính cho thấy giá trị của IgM *M. pneumoniae* có thể được sử dụng để gợi ý chẩn đoán và điều trị nhưng cần nhiều nghiên cứu hơn về tỷ lệ nhiễm *M. pneumoniae* trong dân số chung cũng như nghiên cứu đánh giá tính hiệu quả của chẩn đoán viêm phổi do *M. pneumoniae* bằng huyết thanh chẩn đoán.

Bảng 5 Huyết thanh chẩn đoán

Biến số	N = 65 Trung vị (khoảng tứ phân vị)
Ngày xét nghiệm IgM cho kết quả dương tính	7 (3-10)

Xét nghiệm IgM dương tính 50 % khi xét nghiệm vào ngày thứ 7 của bệnh, 75 % vào ngày thứ 10 của bệnh.

3.3 Đặc điểm điều trị tại BVND2

Bảng 6 Đặc điểm điều trị tại BVND2

Biến số	Số ca (n = 65) và tỷ lệ %
Số ngày điều trị (trung bình)	9 $\pm$ 4,95

Số ca được điều trị Macrolide/Levofloxacin	65 (100)
Macrolide	52 (80)
Levofloxacin	22 (33,8)
Thời điểm bắt đầu điều trị Macrolide/Levofloxacin	
≤ 72 giờ sau nhập viện	57 (87,7)
> 72 giờ sau nhập viện	6 (10,5)
Kháng sinh ban đầu được điều trị	
Điều trị với macrolide	47 (72,3)
+ Ceftriaxone	43 (66,2)
+ Cefepim	1 (1,5)
+ Imipenem	1 (1,5)
+ Ceftriaxone +Vancomycin	2 (3,1)
Điều trị với levofloxacin	10 (15,4)
Đơn trị liệu không kết hợp macrolide	8 (12,3)
+ Ceftriaxone	6 (10,5)
+ Cefepim	2 (3,1)
Diễn tiến sau đợt điều trị kháng sinh ban đầu	
Thuyên giảm	36 (55,3)
Không thuyên giảm/ nặng lên	29 (44,6)
Thêm kháng sinh	19 (29,2)
+ Azithromycin/Clarithromycin	5 (7,7)
+ Levofloxacin	5 (7,7)
+ Vancomycin	9 (13,8)
+ Amikacin	7 (10,8)
+ Imipenem	1 (1,5)
Đổi kháng sinh	7 (10,8)
Levofloxacin	7 (10,8)

Macrolide/ Levofloxacin sử dụng hầu hết trong 72 giờ đầu nhập viện (87,7 %), kháng sinh ban đầu 72,3 % là macrolide, trong đó phối hợp với ceftriaxone chiếm ưu thế (66,2 %). Thời gian điều trị với kháng sinh trung bình ($9 \pm 4,95$) ngày, trong đó 75 % trường hợp điều trị khoảng 12 ngày, trong suốt thời gian điều trị hầu hết sử dụng từ 2 nhóm kháng sinh trở lên (80 %). Sau đợt điều trị với kháng sinh ban đầu tại BVND2 thì hơn một nửa trường hợp cải thiện triệu chứng nhưng 44,6 % còn lại hoặc không thuyên giảm hoặc diễn tiến lâm sàng nặng hơn, đòi hỏi sự thay đổi hoặc thêm mới kháng sinh, trong đó macrolide và levofloxacin được sử dụng thêm 17

trường hợp, nâng tổng số ca được sử dụng kháng sinh điều trị vi khuẩn không điển hình nói chung và *M. pneumoniae* nói riêng lên 100 %. Trong nghiên cứu, levofloxacin được sử dụng trên 22 bệnh nhi (33,8 %) là một dấu hiệu báo động tình trạng đề kháng kháng sinh nói chung và đề kháng macrolide nói riêng, bởi lẽ levofloxacin không chỉ điều trị được vi khuẩn không điển hình mà còn cả các nhóm vi khuẩn gây viêm phổi khác với tỉ lệ nhạy còn khá cao. Tuy nhiên, vì không thực hiện được PCR để xác định chính xác tác nhân gây bệnh, cũng như không có kháng sinh đồ để chứng minh cho lập luận này. Nghiên cứu này cũng có những điểm tương đồng với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Thanh Bình, thời gian nằm viện trung bình điều trị viêm phổi do *M. pneumoniae* là ($11,3 \pm 6,2$) ngày, 59,5 % điều trị từ 7 ngày đến ≤ 14 ngày, ghi nhận được có 4/24 trường hợp trẻ viêm phổi tập trung do *M. pneumoniae* được dùng kháng sinh nhóm macrolide nhưng lâm sàng không cải thiện sau 72 giờ điều trị nên đã đổi sang levofloxacin, trẻ cải thiện tốt hơn sau 48 giờ đổi thuốc [11], cũng có ghi nhận tỷ lệ khỏi bệnh với macrolide đơn thuần chỉ chiếm 17,65 % trong khi đó điều trị levofloxacin từ đầu hoặc chuyển từ macrolide sang levofloxacin thì tỷ lệ khỏi bệnh từ 30,93 % trở lên [6].

4 Kết luận

Bệnh nhi viêm phổi có IgM *M. pneumoniae* dương tính tập trung ở trẻ từ 3 tuổi đến 12 tuổi, độ tuổi trung bình là ($5,89 \pm 3,50$) tuổi, cả nam lẫn nữ với tỉ lệ như nhau. Trước khi nhập viện, trẻ hầu hết đã điều trị kháng sinh ngoại trú, phổ biến với nhóm amoxicillin đơn thuần hoặc kết hợp với acid clavulanic.

Đa số trẻ nhập viện với triệu chứng ho và sốt, thường kèm triệu chứng từ đường tiêu hóa. Rale ẩm ở phổi, nhịp thở và mạch nhanh theo tuổi thường gặp khi thăm khám lâm sàng, tình trạng dinh dưỡng cũng cần lưu ý ở 1/3 trường hợp. Suy hô hấp ít gặp. Cận lâm sàng có các chỉ số đa dạng, số lượng bạch cầu đa số trong giới hạn bình thường, CRP thường tăng, chủ yếu trên 20 mg/L, tổn thương trên hình ảnh X-Quang thường gặp ở thùy và phân thùy, chủ yếu ở thùy dưới phổi phải, tổn thương trên siêu âm màng phổi hay gặp là đông đặc nhu mô phổi.

Trong nghiên cứu này, điều trị tác nhân vi khuẩn không điển hình nói chung và *M. pneumoniae* nói riêng, được

đặc biệt chú trọng. Phác đồ điều trị ban đầu viêm phổi cộng đồng gồm ceftriaxone và macrolide được tuân thủ khá đồng đều, sau đó những ca không đáp ứng điều trị ban đầu này có cận lâm sàng gợi ý nhiễm vi khuẩn không điển hình, đặc biệt là IgM *M. pneumoniae* dương tính kèm theo tổn thương đồng đặc khu trú trên X-Quang ngực, được chuyển qua dùng levofloxacin. Thời gian nằm viện trung bình là $(9 \pm 4,95)$ ngày, tất cả trường hợp đều cho kết quả khả quan hơn sau khi nhập viện. Hơn 1/3 số ca bệnh cần sử dụng levofloxacin đặt ra câu hỏi lớn về tình trạng đề kháng kháng sinh nói chung và nhóm macrolide nói riêng, đòi hỏi cần nhiều nghiên cứu hơn để thảo luận về vấn đề này.

Kiến nghị

Cần tiến hành nghiên cứu trong thời gian dài với cỡ mẫu lớn hơn, so sánh các đặc điểm dịch tễ – lâm sàng – cận lâm sàng – đáp ứng điều trị của nhóm nghiên cứu sử dụng tiêu chuẩn vàng PCR với nhóm chỉ sử dụng huyết thanh chẩn đoán, nhằm đưa ra hướng dẫn đủ độ chính xác và tin cậy về huyết thanh chẩn đoán *M. pneumoniae* cho các bác sĩ lâm sàng lựa chọn để chẩn đoán. Bên cạnh đó, cần có thêm nghiên cứu về tính đề kháng của vi khuẩn không điển hình nói chung và *M.pneumoniae* nói riêng với kháng sinh nhóm macrolide để từ đó xây dựng phác đồ điều trị viêm phổi cộng đồng được cập nhật hơn.

Tài liệu tham khảo

1. Lee Eun, Kim Hong Chul, *et al.* (2020). Annual and seasonal patterns in etiologies of pediatric community-acquired pneumonia due to respiratory viruses and *Mycoplasma pneumoniae* requiring hospitalization in South Korea. *BMC Infectious Diseases*, 20, 132.
2. Christopher Stephen Inchley, Are Stuwitz Berg, Afsaneh Vahdani Benam, *et al.* (2017). *Mycoplasma pneumoniae*: A Cross-sectional Population-based Comparison of Disease Severity in Pre-school and School-age Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 36, 930
3. Oren Gordon, Yonatan Oster, Ayelet Michael-Gayego, *et al.* (2019). The Clinical Presentation of Pediatric *Mycoplasma pneumoniae* Infections-A Single Center Cohort. *The Pediatric infectious disease journal*, 38, 698.
4. Sabine Pereyre, Julien Goret and Cécile Bébéar. (2016). *Mycoplasma pneumoniae*: Current Knowledge on Macrolide Resistance and Treatment. *Frontiers in Microbiology*, 7, 974.
5. Phạm Thu Hiền. (2014). Đặc điểm lâm sàng viêm phổi không điển hình do vi khuẩn ở trẻ em tại Bệnh viện Nhi Trung ương năm 2014. *Tạp chí Dược lâm sàng* 108, 13, 33.
6. Phạm Văn Hòa. (2019). Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng và nhận xét kết quả điều trị viêm phổi do *M. pneumoniae* tại Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 23, 179.
7. Hà Thị Thanh Vân, Nguyễn Thị Yến. (2021). Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng viêm phổi nhiễm *Chlamydia pneumoniae* và *M. pneumoniae* ở trẻ em tại Bệnh viện Nhi Trung ương. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 506, 233.
8. Yeon Jin Cho, Mi Seon Han, Woo Sun Kim, *et al.* (2019). Correlation between chest radiographic findings and clinical features in hospitalized children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *PLOS one*, 14, 219.
9. Nguyễn Thành Nam, Nguyễn Thị Thanh, Phạm Văn Đэм. (2020) Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của viêm phổi do *Mycoplasma pneumoniae* ở trẻ em tại Khoa Nhi, Bệnh viện Bạch Mai. *Kỷ yếu Hội nghị khoa học thường niên Hội hô hấp Việt Nam 2020*
10. Đặng Mai Liên, Lê Thị Hồng Hạnh, Hoàng Thị Thu Hằng và cộng sự. (2023). Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng và một số yếu tố liên quan tới viêm phổi nặng do *Mycoplasma pneumoniae* ở trẻ em tại Bệnh viện Nhi Trung ương. *Tạp chí Nhi khoa Việt Nam*, 16, 1.
11. Nguyễn Thị Thanh Bình, Bùi Thị Thúy Dung. (2022). Căn nguyên vi khuẩn gây viêm phổi tập trung ở trẻ em và kết quả điều trị theo căn nguyên vi khuẩn. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 518, 265.

A survey of characteristics of pneumonia children with positive IgM *Mycoplasma pneumoniae* at Nhi Dong 2 Hospital

Nguyen Thi Thuy Tien*, Nguyen Tran Ngoc Quynh, Nguyen Thi Thu Linh,

Nguyen Quoc Huy Thinh, Bui Thao Tram

Faculty of Medicine, Nguyen Tat Thanh University

*ntttien@ntt.edu.vn

Abstract *Mycoplasma pneumoniae* is a major cause of pneumonia in children at the age of (2-18) (45.3 %). As PCR is highly sensitive but is not always available, *M. pneumoniae* serum test can be used instead. This was a retrospective, cross-sectional descriptive study to survey the characteristics of pneumonia in children with IgM *Mycoplasma pneumoniae* positive at Nhi Dong 2 Hospital in the last 3 months, 65 patients satisfied the requirement. Results have shown that 3 to under 12 years old was the main age and with no gender differences. Cough (87.7 %), fever (75.4 %), and digestive symptoms (33,9 %) such as vomit, and nausea were also common. Physical examination showed that 87.7 % was moist rales. Blood tests showed that in most cases, normal limits white blood cells but CRP > 20 mg/L has happened in ½ children (55.4 %). The location of damage on chest X-ray 40 % was the lower lobe of the right lung, lung ultrasound showed 60 % pulmonary consolidation. Macrolide and 3rd generation cephalosporins were used as first-line treatment, 15.4 % children were switched to Levofloxacin. The mean hospital stay was (9 ± 4,95) days and 100 % recovered from the disease after discharged from the hospital and no deaths were recorded according to the research.

Keywords Pneumonia, *Mycoplasma pneumoniae*, Nhi Dong 2 Hospital, children, IgM *Mycoplasma pneumoniae* serum

MỤC LỤC

A. KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

1	Ứng dụng mô hình stacking kết hợp smote và tối ưu hóa Bayesian đánh giá rủi ro tín dụng	Dương Hớn Minh	1
2	Nghiên cứu sự biến đổi thành phần hóa học của bột hạt mít (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.) lên men trong các quá trình sản xuất ở quy mô pilot	Văn Chí Khang, Lê Thị Tuyết Lan, Nguyễn Trinh Thị Như Hằng, Nguyễn Phú Thương Nhân	10
3	Nghiên cứu quy trình sản xuất “trà cascara” đóng chai	Trần Thị Thu Trà, Tôn Nữ Minh Nguyệt	20
4	Hiện trạng kỹ thuật và quản lý chất thải trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng (<i>Litopenaeus vannamei</i>) thâm canh ở tỉnh Trà Vinh	Lê Quốc Phong	28
5	Nghiên cứu chế biến rượu chưng cất từ mít Thái thứ phẩm (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.)	Nguyễn Vân Ngọc Phượng, Nguyễn Tấn Hùng	36
6	Phân lập và xác định đặc điểm các dòng nấm men từ men rượu trên địa bàn thành phố Cần Thơ	Huỳnh Quốc Huy, Nguyễn Thị Mỹ Trinh, Trần Thị Như Ngọc, Lưu Minh Châu, Nguyễn Ngọc Thanh, Đoàn Thị Kiều Tiên, Huỳnh Xuân Phong	45
7	Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết lên hoạt tính chống oxy hóa, thành phần ginsenoside và dược tính của dịch chiết sâm Ngọc Linh	Nguyễn Quốc Duy, Nguyễn Thị Vân Linh, Huỳnh Quốc Trung, Nguyễn Đức Tín, Đinh Trung Hiếu, Trần Thế Minh, Lương Trọng Khoa	55
8	Effects of fish stocking density on water quality and the growth of red tilapia and vegetables in microalgae-aquaponic systems	Co Thi Kinh, Nguyen Thanh Nho, Vo Thi Dieu Hien, Le Quang Huy, Tra Van Tung, Vu Quang Manh, Le Thai Hoang	62
9	Nghiên cứu bước đầu về môi trường sống của Cà cuống (<i>Lethocerus indicus</i>) trong điều kiện thí nghiệm	Trần Bùi Phúc, Bùi Thanh Kiệt, Nguyễn Thị Ánh Ngọc, Nguyễn Quang Trường, Lương Quang Tường, Vũ Quang Mạnh	72
10	Nghiên cứu giải pháp tưới tiết kiệm nước thích ứng với thâm nhập mặn cho vườn cây sầu riêng ở xã Tam Bình, huyện Cai Lậy, tỉnh Tiền Giang	Nguyễn Hồng Thủy	80
11	Nghiên cứu, thiết kế và chế tạo máy đóng gói sản phẩm dạng bột với năng suất 200 gói/giờ	Hồ Văn Dũng, Khương Anh Sơn, Võ Công Anh, Lê Thị Kim Anh, Trương Ngọc Cường, Ngô Xuân Cường	89

- | | | | |
|----|--|--|-----|
| 12 | Thử nghiệm lên men nem chua nấm sò vua (<i>Pleurotus eryngii</i>) sử dụng vi khuẩn acid lactic | Luu Minh Châu, Nguyễn Thị Mỹ Tiên,
Bùi Hoàng Đăng Long, Đoàn Thị Kiều Tiên,
Nguyễn Văn Thành, Huỳnh Xuân Phong,
Nguyễn Ngọc Thanh | 99 |
| 13 | Nghiên cứu công thức chế biến phô mai tươi từ sữa dê | Lê Thị Kim Loan, Nguyễn Minh Đức,
Phạm Văn Thái | 109 |
| 14 | Tối ưu hóa điều kiện lên men cider từ chanh dây (<i>Passiflora edulis</i> Sims) bằng mô hình phức hợp trung tâm | Nguyễn Thị Kiều Diễm, Lê Hoàng Thanh,
Châu Văn Đan, Trần Bạch Long,
Trần Chí Nhân | 119 |
| 15 | Sử dụng sữa đậu nành nảy mầm trong công thức panna cotta không chứa lactose | Nguyễn Quốc Duy, Đặng Thanh Thủy,
Nguyễn Vĩnh Lâm, Trần Thị An Bình, Võ
Thị Ngọc Diễm, Châu Diễm Huỳnh, Lương
Nguyễn Phi Nhựt | 131 |

B KHOA HỌC SỨC KHỎE

- | | | | |
|----|--|---|-----|
| 16 | Thiết lập quy trình khử hóa tế bào kết hợp khử khoáng xương bò để chế tạo mô xương ghép ứng dụng trong nha khoa tái tạo | Võ Thị Thủy Tiên, Nguyễn Khánh Hòa,
Huỳnh Duy Thảo | 142 |
| 17 | Xây dựng công thức gel bôi da chứa cao chiết nước lá Trầu không (<i>Piper betle</i> L. Piperaceae) | Phan Thị Thanh Thủy, Phan Minh Hoàng,
Lê Bảo Oanh | 151 |
| 18 | Ảnh hưởng của phương pháp bào chế đến tác dụng an thần của Viên chí trên thực nghiệm | Nguyễn Thị Phương Thùy, Danh Đức Khải,
Lư Bích Ngọc Giàu, Vũ Thị Hiệp | 160 |
| 19 | Đánh giá hiệu quả kiểm soát đường huyết giữa nhóm thuốc ức chế men Dipeptidyl peptidase-4 và nhóm thuốc ức chế kênh đồng vận chuyển Natri-Glucose 2 trên bệnh nhân đái tháo đường tuýp 2 tại Bệnh viện Nhân dân Gia Định | Nguyễn Thị Chi, Phạm Hồng Thắm | 167 |
| 20 | Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời indapamid và perindopril tert-butylamin trong viên nén bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao | Đinh Thị Lan Linh, Nguyễn Thành Nghĩa | 175 |
| 21 | Quality of life of patients with chronic renal failure on intermittent hemodialysis at Binh Dan Hospital, Ho Chi Minh city in 2024 | Nguyen Van Canh | 185 |
| 22 | Khảo sát đặc điểm trẻ viêm phổi có huyết thanh chẩn đoán <i>Mycoplasma pneumoniae</i> dương tính tại Bệnh viện Nhi Đồng 2 | Nguyễn Thị Thủy Tiên, Nguyễn Trần Ngọc
Quỳnh, Nguyễn Thị Thu Linh,
Nguyễn Quốc Huy Thịnh, Bùi Thảo Trâm | 192 |

Thể lệ gửi bài đăng
Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành
<http://jst.ntt.edu.vn>

Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành xuất bản 2 tháng/kì; tập hợp công bố kết quả nghiên cứu khoa học, thông tin chuyên đề, bài viết tổng luận của các nhà nghiên cứu, cán bộ, giảng viên trong và ngoài trường. Ngôn ngữ thể hiện: tiếng Việt và tiếng Anh. Chất lượng công bố và trình bày theo chuẩn của một Tạp chí khoa học.

1. Bài gửi đăng là công trình nghiên cứu có nội dung mới và chưa gửi đăng trên bất kì Tạp chí khoa học nào hoặc các dạng xuất bản phẩm khác. Sau khi tác giả thực hiện các yêu cầu chỉnh sửa (của ít nhất 2 phản biện nhận xét, đánh giá), bài đạt yêu cầu sẽ được đăng trong số báo gần nhất.

2. Bài viết không quá 10 trang khổ A4 (khoảng 3.000 - 6.000 từ) kể cả bảng biểu, đồ thị, tài liệu tham khảo với font Time New Roman, font size 11 normal; margin (top/bottom 2.54 cm; left/right 2.54 cm) gồm:

- tên bài, họ và tên tác giả/nhóm tác giả, cơ quan công tác, email; tóm tắt nội dung và những kết quả chính (cỡ chữ 11, không quá 10 dòng), từ khóa;
- nội dung, kết quả và thảo luận, định hướng mới và kết luận. Các số liệu, kết quả thu được là tài liệu gốc, được in và chụp trực tiếp từ các thiết bị thí nghiệm, biện luận phải được trình bày rõ ràng và chính xác;
- tài liệu tham khảo sắp xếp theo thứ tự trích dẫn trong bài;
- ở cuối bài viết bằng tiếng Việt (hoặc Anh) phải có: tên bài, họ và tên tác giả/nhóm tác giả, cơ quan công tác, tóm tắt và từ khóa bằng tiếng Anh (hoặc Việt).

3. Bản thảo điện tử kèm theo Phiếu đăng kí nộp bài (word file và pdf file có chữ kí của các tác giả) gửi theo địa chỉ:

Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành,
300A Nguyễn Tất Thành, P. 13, Q. 4, Tp. Hồ Chí Minh (P. A407).

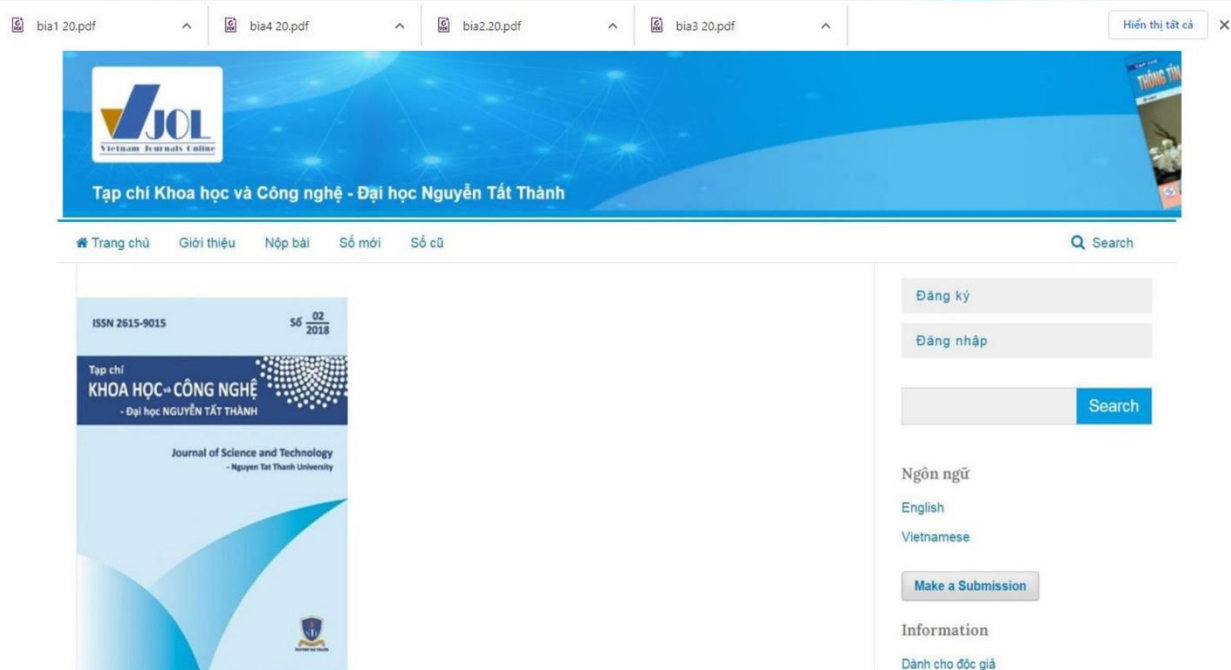
Email: tapchikhcn@ntt.edu.vn;
 blgiang@ntt.edu.vn

Mọi chi tiết, xin liên hệ: mobile: 0918.218.434, 0902.858.828;
 tel.: 028.7108.0889 (ext: 341)

Ban Biên tập



<http://jst.ntt.edu.vn>



Website Tạp chí Khoa học Việt Nam trực tuyến (Vietnam Journals Online- VJOL)

<https://vjol.info.vn>

Tạp chí khoa học Việt Nam trực tuyến (Vietnam Journals online- VJOL) là cơ sở dữ liệu cho phép độc giả truy cập các Tạp chí khoa học xuất bản tại Việt Nam.

Website VJOL hiện do Cục Thông tin Khoa học và Công nghệ Quốc gia (Bộ Khoa học và Công nghệ) quản lý, duy trì và phát triển nhằm tăng cường sự hiện diện và tầm ảnh hưởng của các tạp chí khoa học Việt Nam đối với bạn đọc trong nước và quốc tế, đồng thời đẩy mạnh quá trình chuyển đổi số của các tạp chí khoa học thông qua nền tảng VJOL