

# NGHIÊN CỨU TÍNH ỔN ĐỊNH VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HOÁ CỦA DỊCH ÉP SƠ RI BẰNG PHƯƠNG PHÁP CÔ ĐẶC LẠNH ĐÔNG VÀ NHŨ HOÁ

Đặng Thị Yến<sup>1</sup>, Trần Hiếu<sup>2</sup>, Dương Thị Ngọc Diệp<sup>2</sup>, Kha Chấn Tuyền<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

\*Email: khachantuyen@hcmuaf.edu.vn

Ngày nhận bài: 19/6/2024; Ngày nhận bài sửa: 09/7/2024; Ngày chấp nhận đăng: 26/7/2024

## TÓM TẮT

Trái sơ ri (*Malpighia emarginata* DC.) là một trong những nguồn cung cấp vitamin C và các hợp chất có hoạt tính sinh học tự nhiên tốt nhất. Việc cô đặc và hình thành nhũ tương nước trong dầu (W/O) chứa dịch ép sơ ri giúp nâng cao khả năng ứng dụng và đa dạng hóa sản phẩm thực phẩm. Phương pháp cô đặc lạnh đông và nhũ hóa tự phát đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Số giai đoạn cô đặc và thời gian đông lạnh phù hợp cho từng giai đoạn đã được khảo sát. Các yếu tố ảnh hưởng đến đặc tính nhũ tương như tỉ lệ chất nhũ hóa, tỉ lệ dịch cô đặc và tốc độ khuấy đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy quá trình cô đặc lạnh đông được tiến hành trong 3 giai đoạn với thời gian đông lạnh tương ứng từng giai đoạn là 24 giờ, 36 giờ và 60 giờ thích hợp để cô đặc dịch ép trái sơ ri tươi. Nhũ tương W/O được tạo từ 40% dịch cô đặc và 10% polyglycerol polyricinoleate (PGPR) trong pha dầu, khuấy ở tốc độ 700 rpm trong 15 phút có độ ổn định cao với độ nhớt là  $39,44 \pm 0,58$  mPas. Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol tổng, flavonoid tổng, và vitamin C lần lượt  $24,28 \pm 0,26$  mgGAE/g,  $33,94 \pm 1,84$  mgQE/100 g và  $34,95 \pm 0,74$  mgAAE/g. Khả năng chống oxy hóa xác định bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH đạt được  $64,83\% \pm 1,07$ . Kết quả nghiên cứu cho thấy nhũ tương W/O chứa dịch ép sơ ri bằng phương pháp cô đặc và nhũ hóa tự phát có tính ổn định và chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm.

*Từ khóa:* Sơ ri, hợp chất có hoạt tính sinh học, cô đặc, nhũ tương.

## 1. MỞ ĐẦU

Sơ ri là một loại trái cây được đánh giá cao về lợi ích đối với sức khỏe con người vì chứa lượng lớn các hợp chất phenolic và có hàm lượng vitamin C (1500 - 4500 mg/100 g) cao gấp 50 - 100 lần so với cam hoặc chanh [1]. Tuy nhiên, các hợp chất có hoạt tính sinh học dễ bị phân hủy và oxy hóa khi tiếp xúc với ánh sáng, oxy và nhiệt độ dẫn đến mùi vị khó chịu và làm giảm hoạt tính sinh học của chúng. Ví dụ, tổng hàm lượng vitamin C trong bột sơ ri phân hủy từ 3,08% đến 10,63% khi sấy [2] hoặc giảm 17% ở cà chua khi sấy bằng năng lượng mặt trời [3].

Nhiều phương pháp đã được nghiên cứu để bảo quản và làm giàu hàm lượng các hoạt chất sinh học ứng dụng trong các sản phẩm thực phẩm. Trong đó, cô đặc đông lạnh là phương pháp tách nước khỏi hỗn hợp bằng quá trình đông lạnh và rã đông. Phương pháp này sử dụng nhiệt độ thấp giúp hạn chế thay đổi cấu hình thành phần và duy trì chất lượng sản phẩm. Trong sản xuất thực phẩm, cô đặc lạnh đông đóng vai trò quan trọng đối với các dòng sản phẩm cô đặc dạng lỏng hoặc những sản phẩm có thành phần chính nhạy cảm với nhiệt như nước trái cây [4].

Bên cạnh đó, nhũ hóa là phương pháp vi bao có khả năng bảo vệ các hợp chất sinh học nhạy cảm với các yếu tố môi trường, kéo dài thời hạn sử dụng của sản phẩm, giảm sự phân hủy và cuối cùng là tăng sinh khả dụng. Ví dụ, vi bao resveratrol từ nho [5], vi bao  $\beta$ -carotene [6] và curcumin [7] là những nghiên cứu điển hình về nhũ hóa các hợp chất có hoạt tính sinh học đã được báo cáo.

Các phương pháp nhũ hóa được chia thành phương pháp năng lượng cao và năng lượng thấp. Các phương pháp năng lượng cao thường làm tăng nhiệt độ, dẫn đến hư hỏng cấu trúc và giảm hoạt tính

sinh học của các hợp chất. Trong khi đó, phương pháp năng lượng thấp như là nhũ hóa tự phát sử dụng nội năng của hệ nên không làm thay đổi nhiệt độ của toàn hệ nhũ tương. Hiệu quả của quá trình này bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như chất nhũ hóa, tỷ lệ các pha và tốc độ khuấy.

Polyglycerol polyricinoleate (PGPR) được chọn làm chất nhũ hóa được sử dụng trong nghiên cứu này. Đây là một chất nhũ hóa có nguồn gốc từ thực vật tồn tại ở trạng thái lỏng, màu vàng nhạt, được FDA công nhận là an toàn và được sử dụng trong nhiều ứng dụng thực phẩm. Với giá trị HLB từ 3 đến 4, PGPR là chất nhũ hóa ưa dầu có thể làm giảm độ nhớt của hỗn hợp [15], giảm sức căng bề mặt, giúp dịch ép cô đặc phân tán tốt trong pha dầu, đảm bảo tính bền vững của hệ nhũ tương.

Hiện nay, nghiên cứu ứng dụng vitamin C và các hợp chất phenolic chiết xuất từ sơ ri còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm mục đích làm giàu các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch chiết trái sơ ri và tạo nhũ tương W/O ổn định thông qua việc đánh giá ảnh hưởng của thành phần và tỷ lệ chất nhũ hóa, tỷ lệ dịch sơ ri trong hệ nhũ tương và tốc độ khuấy. Các đặc tính hóa lý của nhũ tương như kích thước hạt, chỉ số đa phân tán, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng vitamin C, hàm lượng phenolic tổng số và tổng hàm lượng flavonoid đã được xác định.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

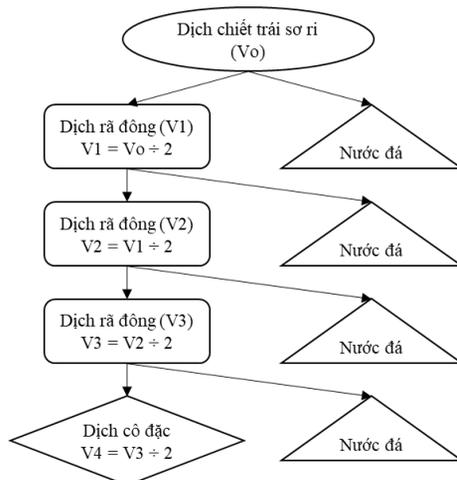
### 2.1. Nguyên liệu

Trái sơ ri được chọn sử dụng trong nghiên cứu này là các trái sơ ri tươi xanh, nguyên vẹn, không bị dập, úng và hư hỏng. Sau khi được thu mua từ hợp tác xã Gò Công Đông (Tiền Giang, Việt Nam), sơ ri được rửa sạch bằng nước để loại bỏ chất bẩn. Sau đó, sơ ri được ngâm trong dung dịch clo 100 ppm trong 5 phút để loại bỏ vi sinh vật trên bề mặt, sau đó rửa lại dưới vòi nước chảy. Để ráo sơ ri và ép lấy nước bằng máy ép chậm HSJ-B30A (Hafele, Nagold, Đức). Bã ép được ép lại lần nữa để thu được lượng dịch chiết tối đa. Dịch chiết sau đó được lọc qua vải mỏng để loại bỏ cặn.

### 2.2. Hóa chất

Metanol (CAS 67-56-1, 99,9%), natri hydroxit (NaOH, CAS 1310-73-2,  $\geq 97\%$ ) và Tween 80 (CAS 9005-65-6,  $\geq 99\%$ ) từ Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, Mỹ). Natri cacbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , CAS 497-19-8) và natri nitrit ( $\text{NaNO}_2$ , CAS 7632-00-0) từ Scharlau (Barcelona, Tây Ban Nha). Nhôm clorua ( $\text{AlCl}_3$ , CAS 7784-13-6,  $> 98\%$ ) từ Duchefa Biochemie (Haarlem, Hà Lan). 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, CAS 1898-66-4), axit gallic monohydrat (CAS 5995-86-8,  $\geq 99\%$ ), axit L-ascorbic (CAS 50-81-7, 99%) và quercetin (CAS 117-39-5,  $\geq 95\%$ ) từ Sigma Aldrich (Saint Louis, Mỹ). Thuốc thử phenol của Folin & ciocalteu (RM10822) từ Himedia (Mumbai, Maharashtra, Ấn Độ). Axit axetic (glacial) (CAS 64-19-7, 100%) từ Merck (Darmstadt, Đức). Polyglycerol polyricinoleate (PGPR, Finamul-VR-42, INS 476) từ Fine Organics Industries (Mumbai, Maharashtra, Ấn Độ) và dầu hương dương tinh luyện có nguồn gốc từ công ty cổ phần Dầu thực vật Tường An (Hà Nội, Việt Nam).

### 2.3. Quy trình cô đặc dịch chiết trái sơ ri



Hình 1. Sơ đồ quy trình cô đặc dịch chiết trái sơ ri bằng phương pháp lạnh đông

Quá trình cô đặc lạnh đông (Hình 1) được thực hiện theo phương pháp của Almeida *et al.* [8]. Trong phương pháp này, mỗi mẻ dịch ép sơ ri được đông lạnh theo các giai đoạn (1, 2, 3 và 4) ở  $-18^{\circ}\text{C}$  trong các khoảng thời gian khác nhau (24, 36, 48, 60 và 72 giờ), sau đó rã đông cho đến khi thu được lượng thể tích bằng  $\frac{1}{2}$  thể tích ban đầu. Các bước rã đông được thực hiện với sự hỗ trợ của vi sóng ở công suất 560 W. Dịch cô đặc của giai đoạn trước được tiếp tục sử dụng cho giai đoạn sau, trong khi đá bị loại bỏ. Dịch ép cô đặc ở điều kiện thích hợp nhất được bảo quản ở  $-18^{\circ}\text{C}$  để sử dụng cho quá trình nhũ hóa.

#### 2.4. Quy trình nhũ hóa dịch chiết trái sơ ri

Nhũ tương W/O được tạo ra bằng phương pháp nhũ hóa tự phát (spontaneous emulsification). Đầu tiên, thêm một lượng PGPR (6%, 8%, 10%, 12%, 14% , w/w) vào dầu hướng dương tinh luyện, trộn đều bằng máy khuấy từ (HSC-7, VELP Scientifica, Usmate Velate, Ý) để hình thành pha dầu. Sau khi pha dầu đã đông nhất, dịch ép sơ ri cô đặc (30%, 35%, 40%, 45%, w/w) được cho từ từ vào pha dầu. Tiếp tục khuấy hỗn hợp (sử dụng tốc độ khuấy 300, 500, 700 và 900 rpm) trong 20 phút để hình thành nhũ tương W/O.

#### 2.5. Phương pháp phân tích

##### Các chỉ tiêu hóa lý

Độ ẩm của các mẫu được phân tích bằng máy phân tích độ ẩm AnD MX-50 (A&D, Tokyo, Nhật Bản). Mẫu (2 g) được đặt trên khay mẫu và sau đó sử dụng chế độ tiêu chuẩn với nhiệt độ sấy  $150^{\circ}\text{C}$  để phân tích.

Hàm lượng vật chất khô hoà tan (TSS, °Brix) được xác định bằng khúc xạ kế cầm tay.

Hệ số cô đặc ở mỗi giai đoạn được tính bằng tỷ lệ giữa tổng hàm lượng chất khô (g) của dịch cô đặc ở mỗi giai đoạn cô đặc và tổng hàm lượng chất khô (g) của dịch chiết sơ ri ban đầu [9].

##### Các hoạt tính sinh học

Hàm lượng của một số hợp chất phenolic được xác định bằng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được mô tả bởi Chuanphonpanich and Phanichphant [10]. Sau khi chuẩn bị, mẫu phân tích được phân tách bằng hệ thống HPLC được trang bị cột Agilent Eclipse XDB-C18 ( $150 \times 4,6$  mm, 5  $\mu\text{m}$ ). Pha động bao gồm acetonitril, axit axetic được điều chỉnh đến pH 3,0 và metanol. Hệ pha động được chuẩn bị và nạp vào thiết bị HPLC để cân bằng cột cho các bước tiếp theo. Trộn 0,005 g phần mẫu với 50 mL metanol, lắc mạnh và sau đó lọc bằng bộ lọc ống tiêm PTFE 0,45  $\mu\text{m}$ . Các mẫu đã lọc được chuyển sang lọ HPLC và đặt vào khay hệ thống HPLC để phân tích.

Phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Škulcova *et al.* [11] được sử dụng để xác định polyphenol tổng (TPC). Để tách pha, cho nhũ tương vào bình lắng gạn quả lê rồi thêm vào đó 3 giọt dung dịch muối bão hòa trên mỗi 10 mL. Sau khi nhũ tương đã tách pha hoàn toàn, lấy phần dung dịch bên dưới để phân tích. 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% được thêm vào 0,5 mL mẫu. Sau 5 phút, thêm 2,5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% vào hỗn hợp, sau đó lắc đều. Mẫu sau đó được ủ trong 1 giờ trong bóng tối ở nhiệt độ môi trường. Độ hấp thụ của mẫu được đo ở bước sóng 765 nm bằng máy quang phổ UV-Vis Agilent 8453 (Agilent Technologies, Santa Clara, California, Mỹ). TPC được tính toán bằng cách sử dụng đường cong chuẩn từ dung dịch axit gallic chuẩn (0,1 - 1,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) và kết quả được biểu thị bằng miligam đương lượng axit galic (GAE) trên gam mẫu (mg GAE/g d.w. ).

Phương pháp của Wu and Ng [12] được sử dụng để xác định flavonoid tổng (TFC). Để tách pha, cho nhũ tương vào bình lắng gạn quả lê rồi thêm 3 giọt dung dịch muối bão hòa trên mỗi 10 mL. Sau khi nhũ tương đã tách pha hoàn toàn, lấy phần dung dịch bên dưới để phân tích. Cho 1 mL mẫu vào 0,3 mL dung dịch  $\text{NaNO}_2$  5% (w/v) và 4 mL nước cất. Sau 5 phút, thêm 0,3 mL dung dịch  $\text{AlCl}_3$  10% (w/v), để yên trong 10 phút, thêm 2 mL NaOH 1M và pha loãng hỗn hợp này đến thể tích cuối cùng là 10 mL bằng nước cất. Máy quang phổ UV-Vis Agilent 8453 được sử dụng để đo độ hấp thụ của mẫu ở bước sóng 510 nm. Đường cong chuẩn được tạo ra từ các dung dịch chuẩn quercetin nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  được sử dụng để tính toán TFC, kết quả được biểu thị bằng miligam đương lượng quercetin (QE) trên mỗi gam mẫu (mg QE/g).

Hàm lượng vitamin C được xác định bằng phương pháp chuẩn độ của CoSeteng *et al.* [13]. Dung dịch thuốc thử DCIP được điều chế bằng cách hòa tan 0,1 g DCIP trong 100 mL nước ấm, sau đó lọc bằng giấy lọc Whatman số 3 và sử dụng trong vòng 3 ngày. Để bắt đầu chuẩn độ, 1 mL axit ascorbic

chuẩn (AA, 0,1 mg/mL) hoặc mẫu thử được kết hợp với 2 mL axit oxalic 4% trong bình Erlenmeyer. Hỗn hợp này sau đó được chuẩn độ bằng dung dịch DCIP cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong vài phút. Tổng hàm lượng vitamin C được biểu thị bằng miligam đương lượng axit ascorbic trên gam mẫu (mgAAE/g) và được tính theo công thức sau:

$$\text{Vitamin C} = \frac{0,1 \times V2 \times V}{V1 \times m \times (100\% - MC)}$$

Trong đó, V là thể tích dịch chiết thu được sau khi lọc (mL), V1 và V2 lần lượt là thể tích thuốc thử chuẩn độ AA và mẫu (mL). MC là độ ẩm mẫu (%) và m biểu thị khối lượng mẫu (g).

Phương pháp bắt gốc tự do DPPH được mô tả bởi Brand-Williams *et al.* [14] được sử dụng để đo hoạt tính chống oxy hóa. Phần trăm khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH được tính theo công thức:

$$\text{Khả năng bắt gốc tự do DPPH (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Trong đó A<sub>0</sub> biểu thị độ hấp thụ của mẫu đối chứng và A biểu thị độ hấp thụ của mẫu.

## 2.6. Xử lý số liệu

Trong nghiên cứu này, mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Kết quả được tính toán bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2019 và phần mềm thống kê SPSS (SPSS Statistics 23), các giá trị p < 0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Đánh giá một số chỉ tiêu hóa lý của dịch chiết trái sơ ri

Dịch chiết sơ ri tươi sau khi ép được phân tích các chỉ số hóa lý. Các hợp chất flavonoid, vitamin C, và một số hợp chất phenolic đơn lẻ bằng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao. Các kết quả phân tích được thể hiện ở Bảng 1 và Bảng 2.

*Bảng 1. Một số chỉ tiêu hóa lý của sơ ri tươi*

Chỉ tiêu phân tích	Kết quả
Hàm lượng ẩm (%)	88,15 ± 0,25
TPC (mgGAE/g)	25,49 ± 0,23
TFC (mgQE/g)	0,41 ± 0,04
Vitamin C (mgAAE/g)	20,13 ± 0,35

Hàm lượng vitamin C của dịch quả sơ ri là 20,13 ± 0,35 mgAAE/g (Bảng 1) cho thấy sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của Vendramini and Trugo [15], hàm lượng vitamin C có trong sơ ri xanh là khoảng 2.164 mg/100 g quả xanh, cao hơn nhiều so với 1.065 mg/100 g quả chín vừa và 1.074 mg/100 g quả chín đỏ. Bên cạnh đó, Prakash and Baskaran [1] cho thấy hàm lượng này dao động từ 1.500 - 4.500 mg/100 g trái tươi, trong khi đó Mezadri *et al.* [16] báo cáo hàm lượng vitamin C là 944 - 1.797 mg/100 mL dịch ép. Kết quả ở Bảng 1 cũng cho thấy chỉ số TPC trong dịch sơ ri tươi là 25,49 ± 0,23 mgGAE/g, kết quả này cao hơn so với số liệu 10,34 - 10,48 mgGAE/g từ nghiên cứu của Delva and Schneider [17], 11,32 mgGAE/g từ nghiên cứu của Vasavilbazo-Saucedo *et al.* [18] và tương đồng với kết quả của Oledzki and Harasym [19] là 24,18 - 28,44 mg/g. Hàm lượng các hợp chất flavonoid được phân tích là khoảng 41 mgQE/100 g. Kết quả này có sự tương đồng với báo cáo của Oledzki and Harasym [19] là 35,56 - 39,97 mgQE/100 g và cao hơn báo cáo của Vilvert *et al.* [20], chỉ khoảng 3,92 - 22,00 mgQE/100 g.

*Bảng 2. Kết quả kiểm nghiệm HPLC dịch chiết sơ ri tươi*

Chỉ tiêu kiểm nghiệm	Kết quả (µg/g vck)
Axit gallic	3,72
Axit chlorogenic	4,41
Catechin	1,37
Rutin	10,73
Axit ferulic	1,30
Quercetin	0,41

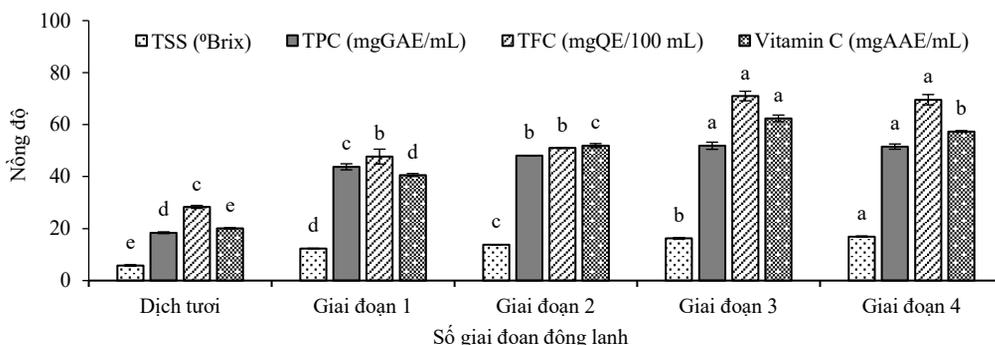
Kết quả ở Bảng 2 cho thấy trong một số hợp chất phenolic có hoạt tính sinh học nổi bật có trong dịch sơ ri thì rutin chiếm hàm lượng cao nhất với 10,73  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , tiếp theo là axit chlorogenic với 4,41  $\mu\text{g}/\text{mL}$  và thấp nhất là quercetin với nồng độ 0,41  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Từ những kết quả trên cho thấy, hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau tùy thuộc vào loại giống sơ ri sử dụng, cũng như điều kiện trồng và khí hậu.

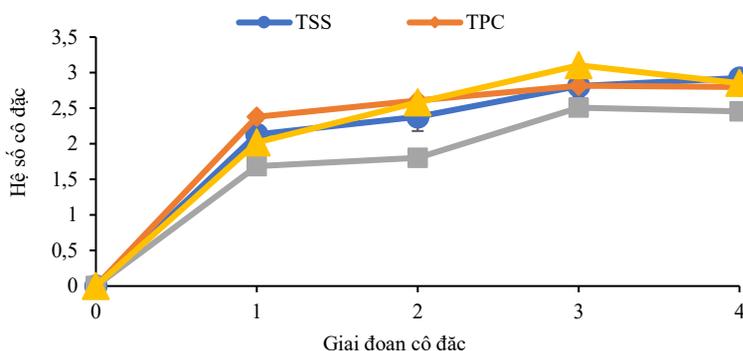
### 3.2. Xử lý dịch ép trái sơ ri bằng phương pháp cô đặc lạnh đông

#### 3.2.1. Ảnh hưởng của số giai đoạn cô đặc lạnh đông lên nồng độ hoạt chất sinh học có trong dịch ép trái sơ ri

Số giai đoạn lặp lại quy trình cô đặc lạnh đông là một trong những yếu tố cần quan tâm để nâng cao hiệu suất cô đặc dịch chiết đồng thời tiết kiệm thời gian và năng lượng sử dụng cho quá trình cô đặc. Vì vậy, nghiên cứu thực hiện đánh giá ảnh hưởng của số giai đoạn cô đặc đến nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch ép trái sơ ri nhằm chọn ra số giai đoạn phù hợp nhất. Kết quả khảo sát được thể hiện trong Hình 2 và Hình 3.



Hình 2. Ảnh hưởng của số giai đoạn cô đặc lạnh đông lên TSS, nồng độ TPC, TFC và vitamin C trong dịch sơ ri. Các ký tự a, b, c, d, e của mỗi giá trị biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).



Hình 3. Hệ số cô đặc chất rắn hòa tan và các hợp chất có hoạt tính sinh học qua từng giai đoạn

Hình 2 và Hình 3 cho thấy khi số giai đoạn cô đặc tăng, hàm lượng tổng chất rắn hòa tan trong dung dịch tăng dần từ  $5,80 \pm 0,30$   $^{\circ}\text{Brix}$  đến  $16,93 \pm 0,23$   $^{\circ}\text{Brix}$ , tương đương với khoảng 2,92 lần. Nghiên cứu của dos Santos *et al.* [21] cũng đưa ra kết quả tương tự rằng hệ số cô đặc TSS trong dịch chiết trái sơ ri bằng phương pháp lạnh đông đạt 2,6. Bên cạnh đó, nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch cô đặc có xu hướng tăng trong 3 giai đoạn cô đặc đầu. Cụ thể, kết quả xử lý số liệu cho thấy sự gia tăng có ý nghĩa thống kê khi nồng độ TPC từ  $18,41 \pm 0,34$  mgGAE/mL trong dịch sơ ri tươi lên đến  $51,87 \pm 1,39$  mgGAE/mL, nồng độ TFC từ  $28,33 \pm 0,58$  mgQE/100 mL lên  $70,99 \pm 1,84$  mgQE/100 mL, trong khi đó nồng độ vitamin C tăng từ  $20,11 \pm 0,23$  mgAAE/mL lên  $62,39 \pm 1,28$  mgAAE/mL ở giai đoạn thứ 3. Khi tiến hành cô đặc đến giai đoạn thứ 4, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) đối với hàm lượng TPC và TFC, nhưng hàm lượng vitamin C trong dịch cô đặc giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Sự gia tăng nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch ép trái sơ ri là phù hợp với nguyên lý hoạt động của phương pháp cô đặc lạnh đông. Sau khi đông lạnh, mẫu dịch được rã đông, phần dịch cùng với phần lớn hợp chất có hoạt tính sinh học sẽ tan ra trước thu được dịch cô đặc với nồng độ các hợp chất cao. Bên cạnh đó, việc suy giảm nồng độ vitamin C khi tiếp tục tăng số giai đoạn cô đặc tương tự với kết quả nghiên cứu của Orellana-Palma *et al.* [22]. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi khi dịch ép trải qua nhiều giai đoạn cô đặc thì nồng độ các chất rắn hòa tan trong dịch chiết càng cao. Khi đó, các hợp chất có hoạt tính có thể liên kết với các phân tử nước thông qua các liên kết hydro làm cho nhiệt độ đóng băng của nước bị giảm. Kết quả là trong quá trình tách băng ra khỏi chất lỏng cô đặc, một phần các hợp chất phenolic và vitamin C bị giữ lại trong băng và bị loại bỏ theo quy trình.

Các kết quả phân tích cho thấy nếu cô đặc dịch ép trái sơ ri trong 3 giai đoạn thì nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học đạt được hệ số cao nhất. Vì vậy, cô đặc lạnh đông trong 3 giai đoạn được chọn là yếu tố cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian đông lạnh lên nồng độ hoạt chất sinh học có trong dịch chiết trái sơ ri

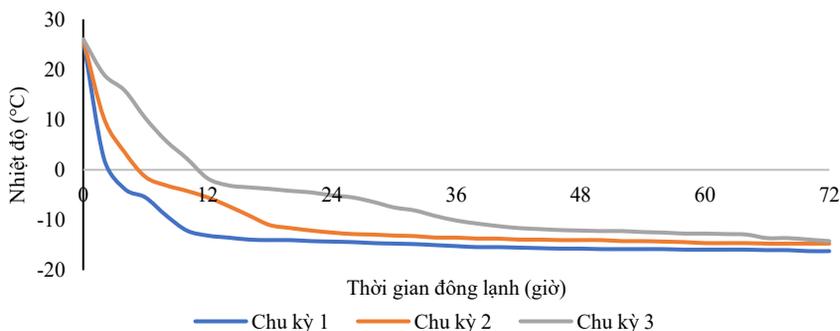
Thời gian đông lạnh là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến mức nhiệt độ mà hệ thống có thể đạt đến khi thực hiện quy trình cô đặc lạnh đông. Vì vậy, ảnh hưởng của thời gian đông lạnh lên quá trình cô đặc cần được thực hiện khảo sát. Kết quả khảo sát được lần lượt thể hiện qua Bảng 3, Hình 4 và Hình 5. Trong đó, dữ liệu mốc 0 giờ ở các giai đoạn được lần lượt phân tích từ dịch ép tươi, dịch cô đặc tốt nhất chọn ra từ kết quả khảo sát giai đoạn 1 và dịch cô đặc tốt nhất chọn ra từ kết quả khảo sát giai đoạn 2.

*Bảng 3.* Ảnh hưởng của thời gian đông lạnh đến TSS ( $^{\circ}$ Brix) của dịch cô đặc qua các giai đoạn cô đặc 1, 2 và 3

Thời gian đông lạnh (giờ)	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
0	5,80 ± 0,30 <sup>b</sup>	12,33 ± 0,12 <sup>c</sup>	16,38 ± 0,14 <sup>e</sup>
24	12,33 ± 0,12 <sup>a</sup>	13,77 ± 0,06 <sup>b</sup>	16,50 ± 0,10 <sup>de</sup>
36	12,30 ± 0,10 <sup>a</sup>	16,47 ± 0,58 <sup>a</sup>	16,77 ± 0,06 <sup>d</sup>
48	12,40 ± 0,20 <sup>a</sup>	16,77 ± 0,06 <sup>a</sup>	19,13 ± 0,12 <sup>c</sup>
60	12,60 ± 0,20 <sup>a</sup>	16,73 ± 0,31 <sup>a</sup>	20,93 ± 0,23 <sup>b</sup>
72	12,60 ± 0,34 <sup>a</sup>	16,73 ± 0,12 <sup>a</sup>	21,35 ± 0,40 <sup>a</sup>

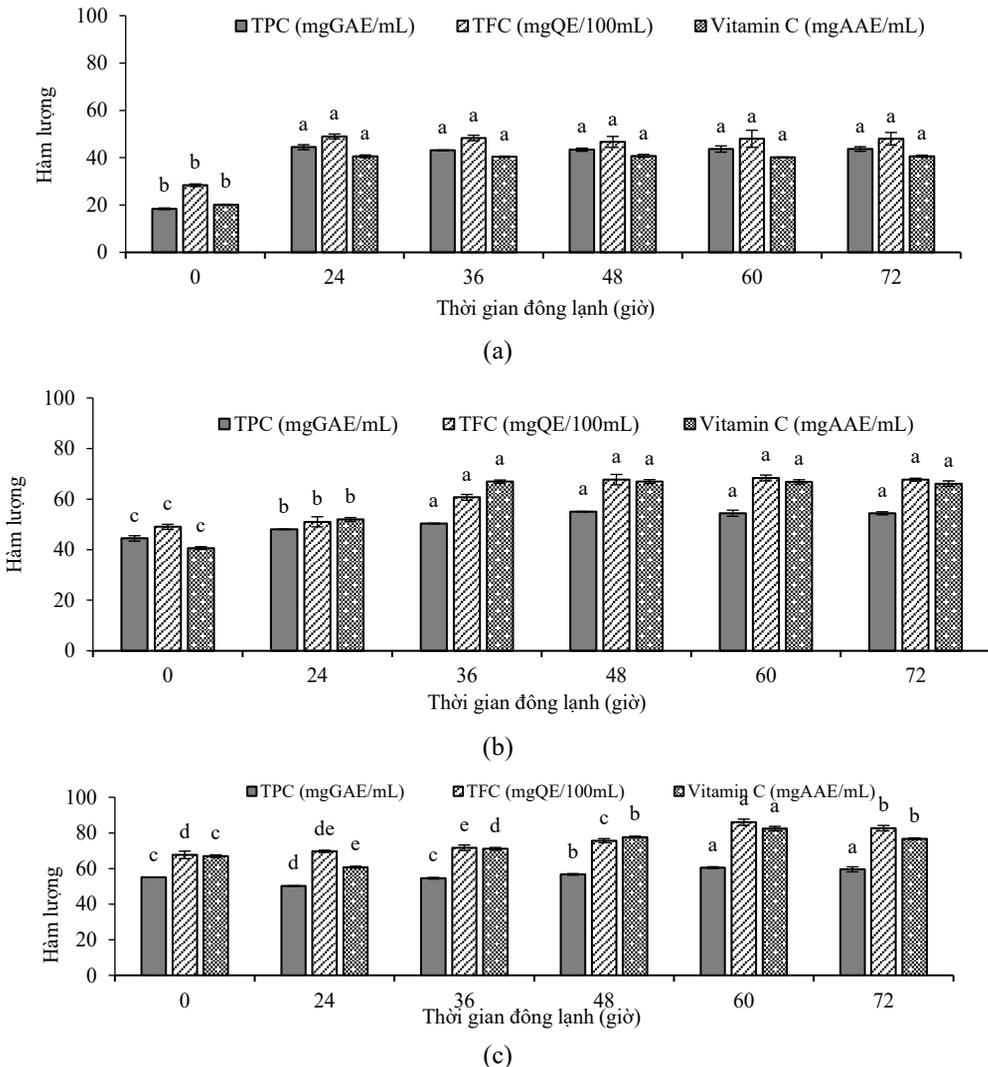
*Các giá trị được trình bày dưới dạng trung bình ± SD với ba lần lặp sau khi phân tích thống kê. Chỉ số a, b, c, d e của mỗi giá trị trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .*

Bảng 3 cho thấy khi thời gian đông lạnh tăng lên, hàm lượng vật chất khô có xu hướng tăng ( $p < 0,05$ ). Điều này thể hiện khi thời gian đông lạnh dịch sơ ri càng kéo dài thì hiệu quả tách tinh thể nước ra khỏi dung dịch làm tăng nồng độ chất rắn càng cao. Bên cạnh đó, Hình 4 cho thấy nhiệt độ có xu hướng giảm chậm hơn khi tăng số giai đoạn cô đặc dịch sơ ri từ 1 lên 3. Cụ thể, mẫu dịch cô đặc 1 giai đoạn chỉ cần gần 4 giờ để giảm nhiệt độ xuống dưới 0 °C, trong khi mẫu dịch cô đặc 2 và 3 giai đoạn cần lần lượt 6 và 12 giờ. Tiếp theo đó, nhiệt độ của các mẫu tiếp tục giảm cho đến khoảng -14 °C và dao động không đáng kể sau 24 giờ đối với giai đoạn 1, 36 giờ đối với giai đoạn 2 và 72 giờ đối với giai đoạn 3.



*Hình 4.* Ảnh hưởng của thời gian đông lạnh lên diễn tiến nhiệt độ của dịch cô đặc qua từng giai đoạn

Hình 5a cho thấy khi thời gian đông lạnh của giai đoạn cô đặc đầu tiên tăng từ 0 đến 24 giờ thì hàm lượng TPC, TFC và vitamin C tăng có ý nghĩa thống kê và sau đó thay đổi không đáng kể khi tiếp tục tăng thời gian đông lạnh lên 72 giờ. Cụ thể, các chỉ số TPC, TFC và vitamin C tăng cao ở mốc 24 giờ với giá trị lần lượt là  $43,78 \pm 1,16$  mgGAE/mL,  $47,70 \pm 2,86$  mgQE/100 mL và  $40,59 \pm 0,58$  mgAAE/mL. Bên cạnh đó, Hình 5b cho thấy ở giai đoạn cô đặc thứ 2, các chỉ số tăng cao ở cột mốc 36 giờ với các giá trị lần lượt là  $55,33 \pm 0,13$  mgGAE/mL,  $68,67 \pm 1,16$  mgQE/100 mL và  $66,90 \pm 0,76$  mgAAE/mL. Kết quả xử lý số liệu ở giai đoạn 2 cho thấy sự thay đổi trong khoảng thời gian từ 0 đến 36 giờ là có ý nghĩa thống kê, trong khi sự thay đổi khi đông lạnh từ 36 đến 72 giờ là không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Ngoài ra, Hình 5c cho thấy sự gia tăng có ý nghĩa thống kê của các chỉ số khi thời gian đông lạnh tăng đến 60 giờ với  $60,53 \pm 0,51$  mgGAE/mL,  $86,01 \pm 1,84$  mgQE/100 mL và  $82,39 \pm 1,28$  mgAAE/mL, sau đó giảm nhẹ khi thời gian đông lạnh kéo dài đến 72 giờ.



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian đông lạnh lên nồng độ hoạt chất sinh học có trong dịch chiết trái sơ ri qua giai đoạn cô đặc: a) Giai đoạn 1, b) Giai đoạn 2, c) Giai đoạn 3  
 Các ký tự a, b, c, d, e của mỗi giá trị biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Phân tích cho thấy thời gian đông lạnh càng dài thì nồng độ TPC, TFC, vitamin C và các chỉ tiêu vật lý có xu hướng càng cao. Ngoài ra, khi số giai đoạn cô đặc tăng lên thì thời gian thích hợp để giảm nhiệt độ và gia tăng nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học càng dài. Lý do cho sự thay đổi này là qua càng nhiều giai đoạn cô đặc thì TSS trong dịch cô đặc càng có xu hướng tăng cao đòi hỏi nhiệt độ đông lạnh thấp hơn dẫn đến cần nhiều thời gian hơn để hạ thấp nhiệt độ của dung dịch. Tuy nhiên, nếu đông lạnh trong thời gian quá dài thì nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch cô đặc lại

giảm đáng kể. Cụ thể, thời gian đông lạnh dịch chiết sơ ri tươi tăng từ 60 đến 72 giờ thì các chỉ số có xu hướng giảm đối với giai đoạn 3. Kết quả này có thể được giải thích bởi thời gian đông lạnh lâu hơn có thể làm thay đổi xu hướng nồng độ chất tan trong nước đá do độ bão hòa của chất tan trong chất cô đặc. Thời gian càng dài thì lượng đá kết tinh càng lớn dẫn tới các hợp chất có hoạt tính sinh học bị giữ lại càng nhiều và sau đó bị loại bỏ theo đá kết tinh [23]. Ngoài ra, nghiên cứu của Chen *et al.* [24] cũng cho thấy phần rắn cao hơn có thể làm cho độ tinh khiết của băng thấp hơn. Do đó, lượng chất hòa tan cao trong chất cô đặc có thể dễ dàng bị giữ lại trong các lớp băng nếu quá trình cô đặc tiếp tục, làm giảm lượng chất tan được thu hồi trong chất cô đặc cũng như hiệu quả của quá trình cô đặc.

Từ các kết quả cho thấy nếu tiến hành đông lạnh dịch chiết tươi ở mức thời gian là 24 giờ, 36 giờ và 60 giờ cho lần lượt giai đoạn 1, 2 và 3 sẽ cho nồng độ các hợp chất có hoạt tính sinh học cao nhất. Vì vậy, các mốc thời gian này được chọn làm thời gian đông lạnh cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.3. Nhũ hóa các hợp chất sinh học từ dịch sơ ri cô đặc

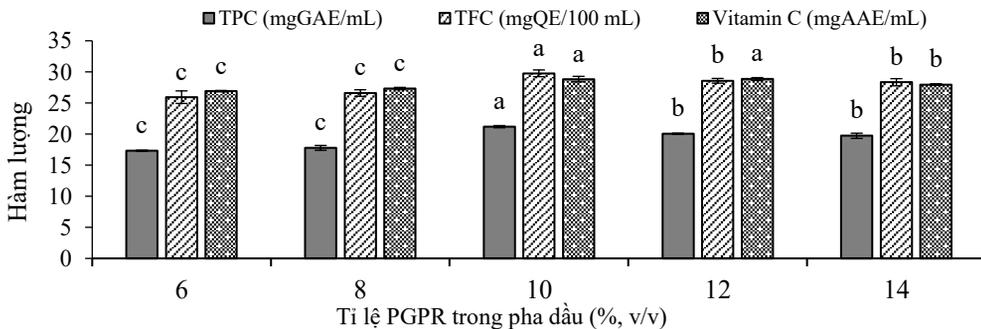
#### 3.3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ PGPR lên các đặc tính lý hoá của hệ nhũ tương W/O

Tỉ lệ PGPR là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình nhũ hóa dịch sơ ri cô đặc. Do vậy, tỉ lệ PGPR cần được nghiên cứu để có thể tạo ra hệ nhũ tương ổn định nhất. Kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 4 và Hình 6.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ PGPR trong pha dầu (v/v) lên độ nhớt và khả năng bắt gốc tự do của nhũ tương W/O

Tỉ lệ PGPR trong pha dầu (% v/v)	6%	8%	10%	12%	14%
Độ nhớt (mPas)	33,63 ± 0,03 <sup>d</sup>	33,40 ± 0,30 <sup>d</sup>	35,58 ± 0,20 <sup>c</sup>	38,40 ± 0,40 <sup>b</sup>	39,32 ± 0,20 <sup>a</sup>
Khả năng bắt gốc tự do DPPH (%)	41,48 ± 1,23 <sup>d</sup>	48,62 ± 0,77 <sup>c</sup>	55,43 ± 0,66 <sup>a</sup>	56,27 ± 0,62 <sup>a</sup>	52,38 ± 0,59 <sup>b</sup>

Giá trị được trình bày dưới dạng trung bình ± SD với ba lần lặp sau khi phân tích thống kê. Chỉ số a, b, c, d của mỗi giá trị trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .



Hình 6. Ảnh hưởng của tỉ lệ PGPR trong pha dầu lên các chỉ số TPC, TFC, vitamin C của nhũ tương W/O

Các ký tự a, b, c của mỗi giá trị biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Bảng 4 cho thấy độ nhớt của nhũ tương có xu hướng tăng từ 33,63 ± 0,03 mPas đến 39,32 ± 0,20 mPas theo sự gia tăng của tỉ lệ PGPR. Bên cạnh đó, khả năng bắt gốc tự do của nhũ tương tăng có ý nghĩa thống kê khi tăng tỉ lệ PGPR từ 6% lên 10% đạt 55,43% ± 0,66, sau đó giảm nhẹ khi tỉ lệ PGPR đạt 14%. Mặt khác, Hình 6 cho thấy các chỉ tiêu có sự tăng giảm theo từng giai đoạn. Cụ thể, khi tăng tỉ lệ PGPR trong pha dầu từ 6% lên 10%, hàm lượng TPC, TFC và vitamin C có xu hướng tăng có ý nghĩa thống kê từ 17,32 ± 0,08 mgGAE/g, 25,93 ± 0,01 mgQE/100 g và 26,90 ± 0,11 mgAAE/g lên đến 21,19 ± 0,18 mgGAE/g, 29,77 ± 0,01 mgQE/100 g và 28,84 ± 0,45 mgAAE/g. Khi tiếp tục tăng tỉ lệ PGPR đến 14% thì các chỉ tiêu trên có xu hướng giảm nhẹ.

Những sự khác biệt về hình thái và kích thước hạt nhũ có thể được giải thích bởi thuyết sức căng bề mặt của quá trình nhũ hóa. Theo thuyết này, các chất hoạt động bề mặt, trong trường hợp này là PGPR, có tác dụng làm giảm sức căng bề mặt giữa hai chất lỏng không thể trộn lẫn, cụ thể là dịch ép sơ ri tan trong nước và dầu hướng dương, làm giảm lực đẩy giữa các chất lỏng và giảm lực hút của mỗi chất lỏng đối với các phân tử của nó. Nhờ vào đó, PGPR hỗ trợ giảm kích thước của các hạt cầu lớn thành những hạt nhỏ, làm giảm xu hướng kết nối lại hoặc kết tụ giữa các hạt và giúp chúng phân tán dễ

dàng hơn. Bên cạnh đó, vi bao tốt hơn giúp hiệu quả bảo vệ các hợp chất có hoạt tính sinh học khỏi ảnh hưởng của các yếu tố bên ngoài, dẫn đến sự gia tăng hàm lượng TPC, TFC, vitamin C (Hình 6) và sự gia tăng khả năng bắt gốc tự do (Bảng 4).

Mặt khác, sự suy giảm của TPC, TFC, vitamin C và khả năng bắt gốc tự do khi tiếp tục tăng tỉ lệ PGPR có thể được giải thích bởi mối quan hệ giữa tỉ lệ chất nhũ hóa và độ nhớt của nhũ tương. Chất nhũ hóa có khả năng gia tăng độ nhớt của nhũ tương. Trong quá trình khuấy tạo nhũ, một lượng oxy nhất định từ môi trường có khả năng đi vào trong nhũ và bị giữ lại trong một khoảng thời gian cho đến khi các bọt khí tự thoát ra ngoài. Trong trường hợp này, độ nhớt của nhũ tương càng cao thì thời gian oxy bị giữ lại càng tăng, dẫn đến khả năng phản ứng giữa các hợp chất chống oxy hóa như vitamin C, phenolic và flavonoid với oxy, làm giảm lượng các hợp chất này trong nhũ, đồng thời làm giảm hiệu quả bắt gốc tự do. Điều này tương tự với kết quả thí nghiệm về hàm lượng axit gallic trong nhũ tương đã được nghiên cứu trước đó [25]. Dựa theo kết quả trên, tỉ lệ PGPR 10% (v/v) trong pha dầu được chọn để đảm bảo hiệu quả vi bao các hợp chất có hoạt tính sinh học cho các thí nghiệm tiếp theo.

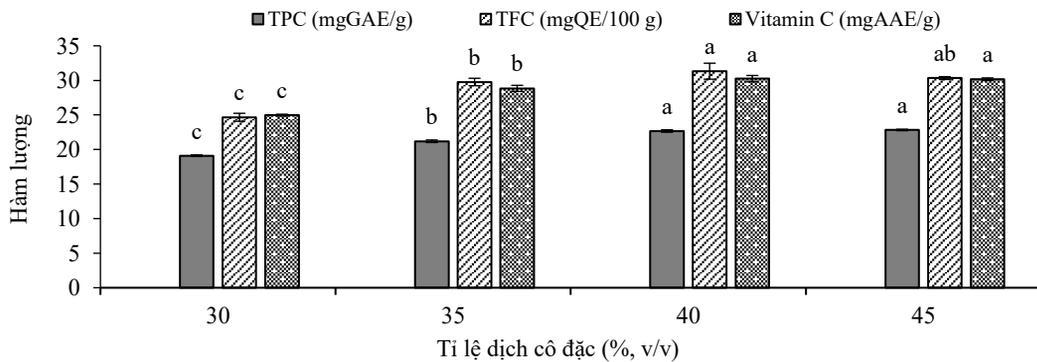
### 3.3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch cô đặc lên các đặc tính lý hoá của nhũ tương W/O

Dịch cô đặc chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học là phần lõi nhạy cảm cần được bảo vệ để hạn chế các tác động từ các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng. Tỉ lệ dịch cô đặc so với vỏ bao là một yếu tố quan trọng để hình thành một hệ nhũ tương bền vững. Vì vậy, tỉ lệ này đã được khảo sát và kết quả được thể hiện qua Bảng 5 và Hình 7.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch cô đặc (% v/v) lên độ nhớt và khả năng bắt gốc tự do của nhũ tương W/O

Tỉ lệ dịch cô đặc (% v/v)	30	35	40	45
Độ nhớt (mPas)	36,50 ± 0,67 <sup>a</sup>	36,83 ± 0,12 <sup>a</sup>	33,08 ± 0,58 <sup>b</sup>	30,93 ± 0,25 <sup>b</sup>
Khả năng bắt gốc tự do DPPH (%)	55,48 ± 0,79 <sup>a</sup>	59,11 ± 1,27 <sup>c</sup>	59,71 ± 1,11 <sup>c</sup>	57,80 ± 0,91 <sup>b</sup>

Giá trị được trình bày dưới dạng trung bình ± SD với ba lần lặp sau khi phân tích thống kê. Chỉ số a, b, c của mỗi giá trị trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .



Hình 7. Ảnh hưởng của tỉ lệ dịch cô đặc lên TPC, TFC và vitamin C có trong nhũ tương W/O. Các ký tự a, b, c của mỗi giá trị biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Bảng 5 cho thấy khả năng bắt gốc tự do của nhũ tương có xu hướng tăng có ý nghĩa thống kê khi tăng tỉ lệ dịch cô đặc trong nhũ. Điều này có thể được lý giải rằng tỉ lệ dịch cô đặc càng tăng đồng nghĩa với việc các hợp chất có hoạt tính sinh học, nằm trong dịch cô đặc, được thêm vào nhũ tương càng cao, dẫn đến khả năng kháng oxy hóa càng mạnh. Mặt khác, khi tăng tỉ lệ phần trăm dịch cô đặc thì độ nhớt của nhũ tương được tạo thành có xu hướng giảm đáng kể. Kết quả này có thể được giải thích bởi ảnh hưởng của pha nước lên độ nhớt của nhũ tương. Pha nước (dịch sơ ri cô đặc) có độ nhớt thấp hơn rất nhiều so với pha dầu (dầu hướng dương) nên khi phần trăm pha nước tăng lên dẫn đến độ nhớt của hệ giảm. Kết quả này cũng tương tự kết quả trong nghiên cứu của Wang *et al.* [26] cho thấy tỉ lệ pha nước càng cao thì khả năng giảm độ nhớt của nhũ tương càng tăng và hệ nhũ tương càng kém ổn định.

Hình 7 cho thấy khi tỉ lệ dịch cô đặc trong nhũ tương tăng thì các chỉ số TPC, TFC và vitamin C có xu hướng tăng ( $p < 0,05$ ). Cụ thể, TPC tăng từ 19,10 ± 0,12 mgGAE/g lên đến 22,82 ± 0,10 mgGAE/g, TFC tăng từ 24,67 ± 0,01 mgQE/100 g lên 30,33 ± 0,58 mgQE/100 g và hàm lượng vitamin C có trong nhũ tương tăng từ 24,97 ± 0,13 mgAAE/g lên đến 30,16 ± 0,19 mgAAE/g khi tỉ lệ dịch cô đặc được phối trộn đạt 40%. Tuy nhiên, các chỉ số này có sự thay đổi không đáng kể khi lượng dịch đạt

45%. Sự gia tăng các chỉ số này có thể được giải thích tương tự như đối với sự gia tăng khả năng bắt gốc tự do, khi tỉ lệ dịch chiết tăng lên, lượng TPC, TFC và vitamin C trên mỗi gam nhũ cũng tăng lên tương ứng. Tuy nhiên, khi tăng lượng dịch lên 45%, sự sụt giảm TPC diễn ra có thể được giải thích bởi sự kém ổn định của hệ nhũ dẫn đến các hợp chất có hoạt tính sinh học bị ảnh hưởng mạnh mẽ bởi điều kiện môi trường. Vì vậy, tỉ lệ dịch chiết 40% được chọn làm tỉ lệ cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.

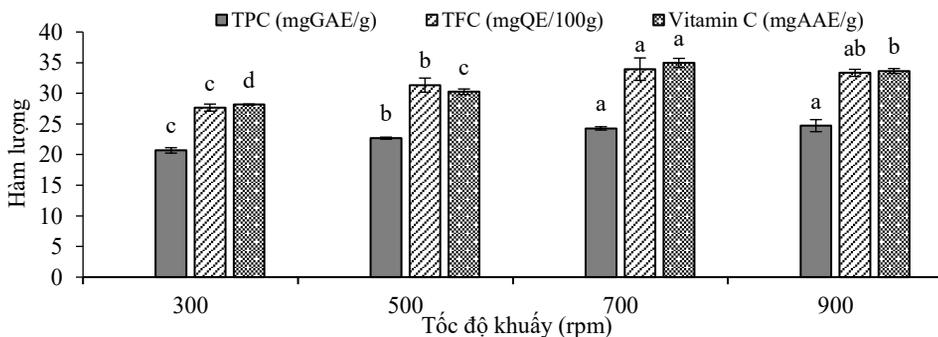
### 3.3.3. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy lên các đặc tính lý hoá của nhũ tương W/O

Phương pháp nhũ hóa tự phát không yêu cầu bất kỳ thiết bị đồng nhất chuyên dụng nào, chẳng hạn như thiết bị đồng hoá áp suất cao, bộ vi lỏng hóa hoặc bộ siêu âm, mà chỉ cần khuấy để nhũ hóa các pha. Do đó, tốc độ khuấy đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhũ hóa. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy lên một số tính chất lý hóa của nhũ tương đã được khảo sát trong thí nghiệm này. Kết quả khảo sát được thể hiện thông qua Bảng 6 và Hình 8.

Bảng 6. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy lên độ nhớt và khả năng bắt gốc tự do của nhũ tương W/O

Tốc độ khuấy (rpm)	300	500	700	900
Độ nhớt (mPas)	33,79 ± 1,00 <sup>c</sup>	36,79 ± 0,07 <sup>b</sup>	39,42 ± 0,57 <sup>a</sup>	39,80 ± 0,02 <sup>a</sup>
Khả năng bắt gốc tự do DPPH (%)	59,81 ± 0,69 <sup>b</sup>	60,63 ± 0,99 <sup>b</sup>	64,84 ± 1,04 <sup>a</sup>	55,42 ± 0,51 <sup>c</sup>

Giá trị được trình bày dưới dạng trung bình ± SD với ba lần lặp sau khi phân tích thống kê. Chỉ số a, b, c của mỗi giá trị trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .



Hình 8. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy lên các chỉ số TPC, TFC và vitamin C có trong nhũ tương W/O. Các ký tự a, b, c, d của mỗi giá trị biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Bảng 6 cho thấy tăng tốc độ khuấy từ 300 rpm đến 900 rpm thì độ nhớt của nhũ tương tạo thành có xu hướng tăng lên đáng kể từ 33,79 ± 1,00 đến 39,80 ± 0,02 mPas. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Wang trên đối tượng nhũ tương W/O [27]. Bên cạnh đó, Bảng 6 cũng cho thấy khả năng bắt gốc tự do của nhũ tương có xu hướng tăng có ý nghĩa thống kê khi tốc độ khuấy tạo nhũ tăng từ 500 rpm lên 700 rpm, sau đó giảm rõ rệt. Mặt khác, ở Hình 8, các chỉ số có xu hướng tăng có ý nghĩa thống kê khi tốc độ khuấy tăng. Cụ thể, TPC, TFC và vitamin C tăng từ 20,68 ± 0,44 mgGAE/g, 27,67 ± 0,58 mgQE/100 g và 28,17 ± 0,07 mgAAE/g lên đến 24,28 ± 0,26 mgGAE/g, 33,94 ± 1,84 mgQE/100 g và 34,95 ± 0,74 mgAAE/g khi tốc độ khuấy tăng từ 300 rpm lên 700 rpm. Sau đó, TPC và TFC thay đổi không có ý nghĩa thống kê khi tốc độ khuấy tăng đến 900 rpm, trong khi hàm lượng vitamin C giảm.

Các kết quả này có thể được giải thích bởi tốc độ khuấy trong quá trình nhũ hóa ảnh hưởng đến kích thước giọt của nhũ [28] và độ phân tán của các giọt [29]. Việc giảm kích thước giọt khi tăng tốc độ khuấy có thể là do năng lượng cơ học được áp dụng đã phá vỡ và phân phối các pha hữu cơ và nước. Đồng thời, việc đảm bảo sự phân bố đều của pha nước trong pha dầu sẽ tạo điều kiện hình thành các giọt nhỏ một cách nhanh chóng và đồng đều, giúp hệ nhũ tương ổn định, từ đó gia tăng khả năng vi bao các vật chất lõi. Các nghiên cứu trước đây cũng đã báo cáo kích thước giọt trung bình của nhũ tương được tạo ra bằng phương pháp năng lượng thấp giảm khi tăng tốc độ khuấy [30-32]. Kích thước hạt nhũ tương có khả năng tác động lên độ nhớt của nhũ tương. Khi kích thước hạt giảm xuống thì mật độ hạt trên một đơn vị thể tích tăng lên, từ đó dẫn đến gia tăng khả năng kháng dòng chảy, đồng nghĩa với việc gia tăng độ nhớt [33]. Dựa vào các kết quả trên, tốc độ khuấy 700 rpm được chọn làm tốc độ khuấy tối ưu để tạo ra nhũ tương W/O từ dịch ép trái sơ ri cô đặc.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy sơ ri chứa hàm lượng các hợp chất phenolic đáng kể ( $25,49 \pm 0,23$  mgGAE/g) và hàm lượng vitamin C ( $20,13 \pm 0,35$  mgAAE/g). Nghiên cứu cũng chứng minh được phương pháp cô đặc bằng lạnh đông 3 giai đoạn với thời gian đông lạnh lần lượt là 24 giờ, 36 giờ và 60 giờ cho từng giai đoạn là phương pháp phù hợp để thực hiện cô đặc dịch chiết từ trái sơ ri xanh với TSS ( $20,93 \pm 0,23$  °Brix), TPC ( $60,53 \pm 0,51$  mgGAE/mL), TFC ( $69,67 \pm 0,02$  mgQE/100 mL) và vitamin C ( $82,39 \pm 1,28$  mgAAE/mL). Ngoài ra, kết quả khảo sát một số yếu tố tác động đến quá trình tạo nhũ W/O cho thấy phương pháp nhũ hóa bằng máy khuấy từ ở tốc độ khuấy 700 rpm với tỉ lệ PGPR trong pha dầu là 10% (v/v) và tỉ lệ dịch chiết cô đặc trong nhũ tương là 40% (v/v) mang lại hiệu quả nhũ hóa cao với độ nhớt là  $39,42 \pm 0,57$  mPas, TPC là  $24,28 \pm 0,26$  mgGAE/g, TFC là  $33,94 \pm 1,84$  mgQE/100 g, vitamin C là  $34,95 \pm 0,74$  mgAAE/g, và khả năng bắt gốc tự do DPPH là  $64,84 \pm 1,04\%$ .

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Prakash, Baskaran, "Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers", *J Food Sci Technol*, vol. 55, pp. 3373-3384, 2018, <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3309-5>.
- [2] Mercali GD, Jaeschke DP, Tessaro IC, Marczak LDF., "Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment", *LWT-Food Science and Technology*, vol. 47, no. 1, pp. 91-95, 2012, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.030>
- [3] Giannakourou MC, Taoukis PS., "Effect of alternative preservation steps and storage on vitamin c stability in fruit and vegetable products: Critical review and kinetic modelling approaches", *Foods* vol. 10, no. 11, 2021, <https://doi.org/10.3390/foods10112630>
- [4] Barros ELdS, Silva CC, Canella MHM, Verruck S, Prestes AA, Vargas MO, Maran BM, Esmerino EA, Silva R, Balthazar CF., "Effect of replacement of milk by block freeze concentrated whey in physicochemical and rheological properties of ice cream", *Food Sci. Technol.*, vol. 42, 2022, <https://doi.org/10.1590/fst.12521>
- [5] de Oliveira MC, Bruschi ML., "Self-emulsifying systems for delivery of bioactive compounds from natural origin", *AAPS PharmSciTech* vol. 23, no. 5, 134, 2022, <https://doi.org/10.1208/s12249-022-02291-z>
- [6] Hou Z, Zhang M, Liu B, Yan Q, Yuan F, Xu D, Gao Y., "Effect of chitosan molecular weight on the stability and rheological properties of  $\beta$ -carotene emulsions stabilized by soybean soluble polysaccharides", *Food Hydrocoll.* vol. 26, no. 1, pp. 205-211, 2012, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.013>
- [7] Piornos JA, Burgos-Díaz C, Morales E, Rubilar M, Acevedo F., "Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation", *Food Hydrocoll.*, vol. 63, pp. 139-148, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.031>
- [8] Almeida ÉdS, Arend GD, Knapp MA, Rezzadori K, Verruck S, Hotza D, de Oliveira D., "Effect of the multi-stage block freeze concentration process on the physicochemical and biological properties of noni tea (*Morinda citrifolia* L.): a case study in Brazil to obtain a promising functional food", *J. Food Meas. Charact.*, vol. 17, pp. 2519-2536, 2023, <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01719-1>
- [9] Aider M, Ounis WB., "Skim milk cryoconcentration as affected by the thawing mode: gravitational vs. microwave-assisted", *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 47, no. 1, pp. 195-202, 2012, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02826.x>
- [10] Chuanphongpanich S, Phanichphant S. - Method development and determination of phenolic compounds in broccoli seeds samples, *Chiang Mai J Sci*, vol. 33, no. 1, pp. 103-107, 2006.
- [11] Škulcova A, Hašičová Z, Hrdlička L, Šima J, Jablonský M., "Green solvents based on choline chloride for the extraction of spruce bark (*Picea abies*)", *Cellul. Chem. Technol.*, vol. 52, no.3-4, pp. 171-179, 2018.
- [12] Wu S-J, Ng L-T., "Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan", *LWT - Food Sci. Technol.* , vol. 41 no. 2), pp. 323-330, 2008, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.003>

- [13] CoSeteng M, McLellan M, Downing D., "Influence of titratable acidity and pH on intensity of sourness of citric, malic, tartaric, lactic and acetic acids solutions and on the overall acceptability of imitation apple juice", *Can. Inst. Food Sci. Tech. J.*, vol. 22, no. 1, pp. 46-51, 1989, [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(89\)70300-X](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(89)70300-X)
- [14] Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C., "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", *LWT-Food Science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25-30, 1995, [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [15] Vendramini AL, Trugo LC., "Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity", *Food Chem.*, vol. 71, no. 2, pp. 195-198, 2000, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00152-7)
- [16] Mezadri, Villaño D, Fernández-Pachón M, García-Parrilla M, Troncoso A., "Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives", *J. Food Compos. Anal.*, vol. 21, no. 4, pp. 282-290, 2008, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.02.002>
- [17] Delva L, Schneider RG, "Acerola (*Malpighia emarginata* DC): production, postharvest handling, nutrition, and biological activity", *Food Rev. Int.*, vol. 29, no. 2, pp. 107-126, 2013, <https://doi.org/10.1080/87559129.2012.714433>
- [18] Vasavilbazo-Saucedo A, Almaraz-Abarca N, González-Ocampo HA, Ávila-Reyes JA, González-Valdez LS, Luna-González A, Delgado-Alvarado EA, Torres-Ricario R., "Phytochemical characterization and antioxidant properties of the wild edible acerola *Malpighia umbellata* Rose", *CyTA - J. Food*, vol. 16, no. 1, pp. 698-706, 2018, <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1475424>
- [19] Oledzki R, Harasym J., "Acerola (*Malpighia emarginata*) anti-inflammatory activity - A review", *Int. J. Mol. Sci.* vol. 25, no. 4, 2089, 2024, <https://doi.org/10.3390/ijms25042089>
- [20] Vilvert JC, Freitas STd, Veloso CM, Amaral CLF., "Genetic diversity on acerola quality: A systematic review", *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 67, 2024, <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2024220490>
- [21] dos Santos LT, Nunes MM, Martins JT, Benedetti S., "Effect of block freeze concentration process on acerola juice (*Malpighia emarginata*)", *Carpathian J. Food Sci. Technol.*, vol. 15, no. 4, pp. 183-191, 2023, <https://doi.org/10.34302/crpfjst/2023.15.4.14>
- [22] Orellana-Palma P, Petzold G, Guerra-Valle M, Astudillo-Lagos M., "Impact of block cryoconcentration on polyphenol retention in blueberry juice", *Food Biosci.*, vol. 20, pp. 149-158, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.10.006>
- [23] Azman N, Samsuri S, Jusoh M., "Effect of freezing time and shaking speed on the performance of progressive freeze concentration via vertical finned crystallizer", *Int. J. Automat. Mec. Eng.*, vol. 15, no. 2, pp. 5356-5356, 2018, <https://doi.org/10.15282/ijame.15.2.2018.15.0412>
- [24] Chen Y, Cao E, Cui Z., "An experimental study of freeze concentration in biological media", *Food Bioprod. Process.*, vol. 79, no. 1, pp. 35-40, 2001, <https://doi.org/10.1205/09603080151123344>
- [25] Gomes A, Costa ALR, de Assis Perrechil F, da Cunha RL., "Role of the phases composition on the incorporation of gallic acid in O/W and W/O emulsions", *J. Food Eng.*, vol. 168, pp. 205-214, 2016, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.041>
- [26] Wang J, Shi A, Agyei D, Wang Q., "Formulation of water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsions containing trans-resveratrol", *RSC Advances*, vol. 7, no. 57, pp. 35917-35927, 2017, <https://doi.org/10.1039/C7RA05945K>
- [27] Wang K, Liu P, Wang B, Wang C, Liu P, Zhao J, Chen J, Zhang J., "Experimental study and numerical simulation of W/O emulsion in developing heavy oil reservoirs", *Appl. Sci.*, vol. 12, no. 22, 11867, 2022, <https://doi.org/10.3390/app122211867>
- [28] Peralta-Martínez MV, Arriola-Medellín A, Manzanares-Papayanopoulos E, Sánchez-Sánchez R, Palacios-Lozano EM., "Influence of the speed mixing-on viscosity and droplet size of oil in water emulsions", *Pet. Sci. Technol.*, vol. 22, no. 7-8, pp. 1035-1043, 2004, <https://doi.org/10.1081/LFT-120038709>

- [29] Simovic S, Milic-Askračić J, Vuleta G, Ibric S, Stupar M., "The influence of processing variables on performance of O/W emulsion gels based on polymeric emulsifier (Pemulen® TR-2NF)", *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 21, no. 2, pp. 119-125, 1999, doi: [10.1046/j.1467-2494.1999.183572.x](https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.1999.183572.x)
- [30] Saberi AH, Fang Y, McClements DJ., "Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification", *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 391, pp. 95-102, 2013, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.08.069>
- [31] Mayer S, Weiss J, McClements DJ., "Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: factors influencing droplet size and stability", *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 402, pp. 122-130, 2013, doi: [10.1016/j.jcis.2013.04.016](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.04.016)
- [32] Wei L, Bi H, Zhao J, Dong H, Wang D, Zhang X., "The influence of the microstructure of W/O emulsion of waxy crude oil on its rheology", *Adv. Chem. Eng. Sc.*, vol. 9, no. 4, pp. 299-316, 2019, <https://doi.org/10.4236/aces.2019.94022>
- [33] Yi L, Wang C, van Vuren T, Lohse D, Risso F, Toschi F, Sun C., "Physical mechanisms for droplet size and effective viscosity asymmetries in turbulent emulsions", *J. Fluid Mechanics*, vol. 951, A39, 2022, <https://doi.org/10.1017/jfm.2022.881>

## ABSTRACT

### RESEARCH ON STABILITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ACEROLA JUICE USING FREEZE CONCENTRATION AND EMULSION

Dang Thi Yen<sup>1</sup>, Tran Hieu<sup>2</sup>, Duong Thi Ngoc Diep<sup>2</sup>, Kha Chan Tuyen<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>*Ho Chi Minh City University of Industry and Trade*

<sup>2</sup>*Nong Lam University Ho Chi Minh City*

\*Email: [khachantuyen@hcmuaf.edu.vn](mailto:khachantuyen@hcmuaf.edu.vn)

Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) is one of the best sources of vitamin C and natural bioactive compounds. Concentrating and forming W/O emulsions containing acerola juice helps improve applicability and diversify food products. This study used freeze concentration and spontaneous emulsification methods. The number of concentration stages, the appropriate freezing times, and factors affecting emulsion properties, such as emulsifier ratio, concentrate ratio, and stirring speed, have been studied. Selected results from the previous experiment will be used consistently in the following experiments. The results showed suitable conditions for concentrating acerola juice were 3 stages of concentration with a freezing time of 24, 36, and 60 hours, respectively. W/O emulsion created from 40% concentrate and 10% PGPR in the oil phase, stirred at 700 rpm for 15 min, had high stability with a viscosity of  $39.44 \pm 0.58$  mPas. The content of biologically active compounds such as TPC, TFC, and vitamin C was found to be  $24.28 \pm 0.26$  mgGAE/g,  $33.94 \pm 1.84$  mgQE/100 g, and  $34.95 \pm 0.74$  mgAAE/g, respectively. Antioxidant capacity, determined by the DPPH free radical scavenging method, was  $64.83 \pm 1.07\%$ . The research results indicated that the W/O emulsion containing acerola juice produced by the concentration and spontaneous emulsification method was stable and contains high levels of bioactive compounds, making it applicable in the food industry.

*Keywords:* Acerola, bioactive compounds, freeze concentration, emulsion.