

BỘ GIÁO DỤC VÀ
ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

TRẦN DUY PHONG

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG MỘT SỐ KỸ THUẬT TIÊN TIẾN VÀ
CÔNG NGHỆ TÍCH HỢP ĐỂ CHẾ BIẾN TOÀN DIỆN
RONG NÂU THÀNH CÁC SẢN PHẨM HỮU ÍCH

Chuyên ngành: Kỹ thuật hóa học

Mã số: 9 52 03 01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Hà Nội - 2023

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ
- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học 1: GS. TS. Phạm Quốc Long

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS. TS. Trần Quốc Toàn

Phản biện 1: ...

Phản biện 2: ...

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ... giờ ..', ngày ... tháng ... năm 202....

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ

- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Rong nâu được xác định có nhiều thành phần có giá trị như axit alginic, fucoidan, fucoxanthin và phlorotanin... Tuy nhiên, việc khai thác và chế biến rong nâu của Việt Nam hiện còn hạn chế, rong nâu chủ yếu được chế biến thành thực phẩm ở quy mô hộ gia đình. Việc chiết xuất các sản phẩm có giá trị từ rong nâu mới dừng lại ở quy mô phòng thí nghiệm hoặc pilot, một số nghiên cứu đã ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến (chiết siêu âm, chiết enzyme – vi sinh, chiết sử dụng vi sóng...) nhưng chỉ mới dừng ở việc chiết xuất các thành phần cụ thể, chưa đưa ra được quy trình chế biến toàn diện đối với đối tượng rong nâu.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Nghiên cứu, đánh giá hiệu quả của việc ứng dụng và tích hợp các công nghệ tiên tiến (vi sóng, enzyme, siêu âm...) để chiết xuất các chất hữu ích từ rong nâu như fucoxanthin, phlorotanin, fucoidan và alginate...

- Xây dựng quy trình công nghệ chế biến toàn diện rong nâu thành các sản phẩm có giá trị cao.

- Nghiên cứu, khảo sát nhóm nguyên liệu rong thuộc họ rong nâu để đánh giá về hàm lượng alginate, acid béo, lớp chất lipid....

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Xây dựng quy trình công nghệ chế biến toàn diện rong mơ *Sargasum. sp.* thành các sản phẩm có giá trị cao như fucoxanthin, phlorotanin, fucoidan và alginate bằng các kỹ thuật tiên tiến (enzyme, siêu âm, ly tâm 3 pha và lọc màng).

- Nghiên cứu tối ưu hóa công nghệ chiết xuất phenolic từ rong nâu theo phương pháp vi sóng.

- Xây dựng quy trình công nghệ chiết xuất alginate từ rong mơ theo phương pháp tích hợp siêu âm và enzyme, đánh giá tác dụng sinh học, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở sản phẩm.

- Nghiên cứu dự đoán khả năng ức chế enzyme Tyrosinase của một số hợp chất chiết xuất từ chi rong mơ.

- Nghiên cứu khảo sát hàm lượng alginate, hàm lượng acid béo và lớp chất lipit, dự đoán khả năng làm trắng da của một số hợp chất phân lập từ chi rong nâu.

- Nghiên cứu xử lý các phụ phẩm của quá trình chế biến.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Giới thiệu rong Nâu

1.1.1. Giới thiệu chung

Ngành rong Nâu (Phaeophyta hay Ochrophyta), bao gồm lớp Phaeophyceae, gồm các loại tảo nâu đa bào với nhiều hình thái và kích cỡ khác nhau, bao gồm 16 bộ với khoảng 285 chi và khoảng 2040 loài, trong đó khoảng 1500 loài đã được xác định trên toàn thế giới. Ngoại trừ một số chi sống ở vùng nước ngọt (ít hơn 1%), hầu hết các loại rong nâu đều sống ở biển và phần lớn phát triển ở các khu vực cận triều. Trong đó, 95% các loài rong nâu phân bố rộng rãi ở vùng nước lạnh đến ôn đới. Tại vùng biển Việt Nam, các tác giả Lê Như Hậu, Nguyễn Văn Tứ đã thống kê được 827 loài rong biển, trong đó ngành rong Nâu có 147 loài.

Nguồn lợi của rong nói chung và rong nâu nói riêng là rất lớn. Theo thống kê của FAO (1976), nguồn lợi ước tính của ngành rong Nâu ở các khu vực địa lý khác nhau là 14.600.000 tấn với tổng sản lượng khai thác là 1.315.000 tấn. Trong đó chúng được dùng để sản xuất ra các loại keo rong biển như alginate, agar hoặc được chế biến làm thức ăn cho vật nuôi, làm phân bón. Nhiều loài rong nâu cũng là nguồn thực phẩm quan trọng của con người.

1.1.2. Thành phần hoá học, hoạt tính và ứng dụng

Giống như các ngành rong biển khác, rong Nâu chứa các chất cơ bản như cacbonhydrate (4-70%CK), protein (3-24%CK), lipid (0,3-4,8%CK), tro (14-45%CK). Rong biển nói chung và rong Nâu nói riêng có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học cao như các sắc tố (carotenoid), các polysaccharid (alginate, fucoidan), lipit dự trữ, các vitamin,... có tiềm năng ứng dụng cao trong lĩnh vực y dược.

1.2. Các công nghệ chế biến rong Nâu

1.2.1. Công nghệ truyền thống

1.2.2. Công nghệ hiện đại

- Chiết xuất có hỗ trợ siêu âm (UAE)
- Chiết xuất có hỗ trợ enzyme (EAE)
- Chiết xuất có hỗ trợ vi sóng (MAE)
- Một số phương pháp hiện đại khác:
 - + Chiết chất lỏng điều áp (PLE)
 - + Chiết xuất có hỗ trợ ép đùn (ExEA)
 - + Chiết chất lỏng siêu tới hạn (SFE)

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Mẫu nghiên cứu thành phần: thu mẫu bằng phương pháp lấy mẫu trực tiếp và phương pháp lặn sâu. Mẫu rong biển được thu thập tại các bãi rong, loại tạp và rửa sạch lại bằng nước biển sau đó phơi khô đến độ ẩm dưới 35% sau đó đưa về lưu trữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên trước khi chế biến. Các mẫu được định danh bởi PGS. TS. Đàm Đức Tiến – Viện Tài nguyên và Môi trường biển

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định hàm lượng phenolic tổng

2.2.2. Phương pháp xác định alginate

2.2.3. Phương pháp sàng lọc invitro

2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng và thành phần lipid

2.2.5. Phương pháp xác định thành phần và hàm lượng các axit béo

2.2.6. Xác định hàm lượng Fucoidan bằng phương pháp so màu

2.2.7. Xác định hàm lượng fucoxanthin

2.3. Phương pháp đánh giá tác dụng sinh học

2.3.1. Phương pháp đánh giá chỉ tiêu an toàn

2.3.2. Phương pháp xác định độc tính cấp

2.3.3. Nghiên cứu tính độc bán trường diễn

2.3.4. Phương pháp đánh giá tác dụng đào thải kim loại nặng

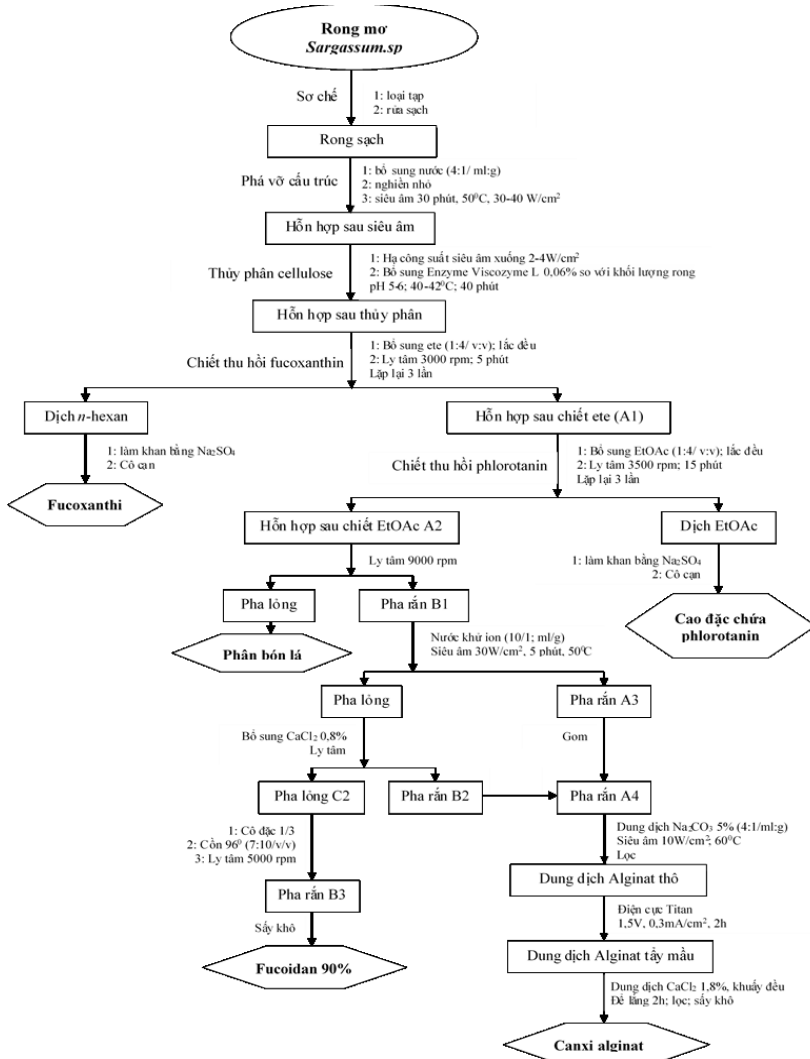
2.3.5. Phương pháp đánh giá khả năng chống loãng xương

2.3.6. Phương pháp thử hoạt tính chống oxi hóa

2.3.7. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tính tế bào

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sử dụng kỹ thuật tiên tiến và công nghệ tích hợp chế biến rong nâu



Hình 3.1. Sơ đồ quy trình sử dụng kỹ thuật tiên tiến và công nghệ tích hợp để chế biến rong mơ

Luận án đã đưa ra quy trình công nghệ chế biến toàn diện rong mơ *Sargasum sp.* thành các sản phẩm có giá trị cao như fucoxanthin, phlorotanin, fucoidan và alginat theo phương pháp tích hợp enzyme – siêu âm và các kỹ thuật tiên tiến (enzyme, siêu âm, ly tâm 3 pha và lọc màng). Quy trình được mô tả là hiệu quả với khả năng thu hồi đồng bộ và hiệu suất cao các sản phẩm và hạn chế tối đa chất thải từ nguồn nguyên liệu rất dồi dào, có sẵn trong tự nhiên.

Luận án tiến hành khảo sát một số phương án nhằm mục đích nghiên cứu sự ảnh hưởng của tích hợp các kỹ thuật tiên tiến khác nhau đến hiệu quả quá trình chiết xuất tạo các sản phẩm. Kết quả cho thấy, phương án sử dụng tích hợp siêu âm và enzyme cho kết quả tối ưu nhất, thu được đồng thời các sản phẩm fucoxanthin, phlorotanin, fucoidan và alginat với hàm lượng các hoạt chất cao, qua đó giảm thời gian, dung môi, hao phí máy móc thiết bị, do đó giảm giá thành sản phẩm và mang lại giá trị kinh tế cao. Ngoài ra, các nghiên cứu về sử dụng tích hợp kỹ thuật ly tâm 3 pha và lọc màng đã làm giảm thời gian thu các sản phẩm so với phương pháp thông thường là 30%.

3. 2. Kết quả nghiên cứu, khảo sát một số mẫu rong nâu nguyên liệu

3.2.1. Nghiên cứu khảo sát hàm lượng alginate một số loại rong thu hoạch tại biển Việt Nam

Qua kết quả phân tích hàm lượng axit Alginic trong các loài rong Nâu biển động theo tháng của một số tác giả cho thấy: Hàm lượng axit Alginic tích lũy trong các loài rong khác nhau có sự sai khác nhau rõ rệt. Thời gian thu hoạch rong Mơ thích hợp là vào tháng 4 và tháng 5 hàng năm.

Kết quả phân tích thành phần hóa học chính của 3 loài rong cho thấy rằng hàm lượng protein trong các mẫu rong biển biến động trong

khoảng từ 1,7 đến 7,0%, hàm lượng lipit < 2 %, hàm lượng tro từ 20,4% đến 46,3%. Hàm lượng tro cao chứng tỏ nguyên liệu rong chứa hàm lượng muối khoáng cao, vì vậy trước khi chế biến cần thiết phải rửa sạch các chất khoáng còn bám trên cây rong.

Sự có mặt đồng thời alginat và các chất polyme sinh học như fucoidan, laminaran và polyuromanin trong rong nâu cho thấy rong nâu không chỉ là nguồn nguyên liệu để sản xuất alginat mà còn là nguyên liệu sản xuất các polyme sinh học. Để khai thác hiệu quả nguồn lợi rong biển cần xây dựng quy trình công nghệ phức hợp để có thể thu nhận được đồng thời các polysaccharit có trong chúng.

3.2.2. Nghiên cứu khảo sát hàm lượng các acid béo và lớp chất lipid

Hàm lượng lipid thu được trong các mẫu Rong biển đạt 0,07-2,11%. Các mẫu chủ yếu có hàm lượng trên 0,5% chiếm hơn một nửa tổng số mẫu nghiên cứu. Có 5 mẫu Rong có hàm lượng lipid tổng ở mức trung bình 0,5-1% và 3 mẫu ở mức cao tới 1-2% là *Dictyota dichotoma* (RB04 VM-RD); *Sargassum sp.* 2 (RB 03 LS); *Turbinaria turbinata* (RB 08 LS) với hàm lượng lần lượt là 1,28%; 2,11% và 1,58%.

Nghiên cứu về thành phần và hàm lượng acid béo có trong lipid tổng của các mẫu rong biển chúng tôi nhận thấy có sự đa dạng các acid béo trong thành phần lipid tổng của các mẫu nghiên cứu, phổ biến từ C14-C24. Đặc biệt trong đó mẫu Rong nâu RB 03 LS *Sargassum sp.* 2 có sự xuất hiện của acid béo no hexacosanoic (26:0) với hàm lượng lần lượt là 0,41%. Các acid béo xuất hiện với thành phần lipid của các mẫu rong biển trong đó có một số acid béo có mặt trong gần như toàn bộ các mẫu nghiên cứu như các acid béo no 14:0; 15:0; 16:0 và 18:0 hay các acid béo không no như 16:1n-9; 18:2n-6; 18:1n-9; 20:4n-6; 20:3n-6. Tuy nhiên, hàm lượng của các acid béo lại không đồng đều

mà tập trung chủ yếu ở các acid 14:0; 16:0; 18:2n-6; 18:1n-9 và 20:4n-6 với hàm lượng cao nhất đạt từ 14,66-79,43%.

3.2.3. Nghiên cứu dự đoán khả năng làm trắng da của một số hợp chất phân lập từ rong nâu

Qua tổng hợp tài liệu, có 71 chất được tách chiết từ Rong mơ đã được các nhóm nghiên cứu và xác định cấu trúc. Công thức và ký hiệu của các hợp chất này được biểu thị trong phụ lục. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hợp chất tropolone đã được chứng minh có cơ chế ức chế tyrosinase làm chất chuẩn.

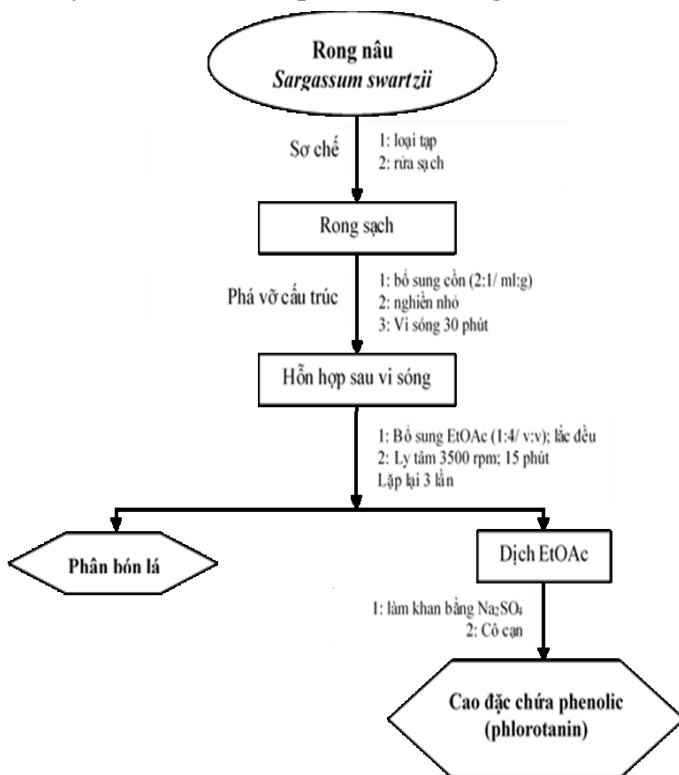
Tổng hợp số liệu đã chỉ ra, các hợp chất 3, 11, 16, 18, 38 và 45 được xác định có tiềm năng tạo ái lực liên kết mạnh với enzyme tyrosinase với giá trị năng lượng liên kết lần lượt là -14,06; -13,62; -12,02 và -12,13; -12,15 và -13,99 kcal/mol. Trong đó, năng lượng tự do liên kết của ba chất 3, 11 và 45 vượt trội so với giá trị thu được của phối tử chuẩn tropolone.

Tiến hành phân tích tương tác tạo thành của ba hợp chất có ái lực liên kết mạnh nhất với đích sinh học mục tiêu. Số liệu thu được cho thấy đa số các axit amin quan trọng hình thành nên vùng hoạt động của enzyme (His259, His263, Met280, Ser282, Ala286) có tham gia tạo liên kết với chất ức chế chuẩn tropolone.

Hình ảnh tương tác không gian hai chiều và ba chiều của các hợp chất 3, 11 và 45. Kết quả cho thấy, trong số ba hợp chất thể hiện ái lực liên kết mạnh với sEH, chỉ có hợp chất 11 và 45 có tiềm năng ức chế hoạt động của enzyme này thông qua các tương tác tạo thành trực tiếp với những amino axit quan trọng cấu thành nên vùng hoạt động của enzyme. Hợp chất 3 được quan sát không hình thành liên kết hydro với enzyme tyrosinase, các tương tác yếu tham gia vào tương

tác giữa phối tử và enzyme gồm có His61, His244, Val248, His263, Phe264, Val283. Do đó, có thể định hướng rằng hợp chất 3 không phải là chất ức chế tiềm năng với đích thụ thể nghiên cứu.

3.3. Kỹ thuật chiết xuất phenolic từ rong nâu



Hình 3.2. Quy trình chiết xuất phenolic từ rong nâu

Kết quả nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết phenolic từ rong nâu theo phương pháp chiết lò vi sóng:

Tiến hành thí nghiệm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết phenolic từ rong nâu lần lượt là nồng độ dung môi (ethanol 0%, 30%, 50%, 75%, 96%), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (15/1, 20/1,

25/1, 30/1, 35/1, 40/1), thời gian chiết (15, 30, 45,60, 75, 90 phút), công suất lò vi sóng (80, 240, 400, 560, 800 W)

Kết quả lựa chọn: Nồng độ ethanol 60%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 35/1, thời gian chiết 60 phút, công suất chiết 400W.

Kết quả tối ưu hóa điều kiện chiết xuất phenolic từ rong quạt bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM):

Hàm lượng phenolic tổng tối ưu của dịch chiết được dự đoán là 1,52 mgGAE/g, khối lượng cao chiết tối ưu dự đoán là 8,6 mg. Thông số tối ưu của quá trình chiết được dự đoán là: nồng độ ethanol 54,5%; tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu là 34,6; thời gian chiết 64,28 phút và công suất máy vi sóng là 473,6W. Tiến hành thực nghiệm chiết ở các điều kiện nồng độ ethanol 55%, tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu = 35; thời gian chiết 65 phút và công suất lò vi sóng là 640W và đánh giá hàm lượng phenolic và khối lượng cao chiết cho thấy: hàm lượng phlorotannin thu được theo thực nghiệm là $1,50 \pm 0,12$ mgGAE/g; khối lượng cao chiết là $8,52 \pm 0,11$ mg chênh lệch không đáng kể so với dự đoán.

Đánh giá hoạt tính của cao chiết phenolic:

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

STT	Mẫu	SC ₅₀ (µg/mL)
1	Chứng (+) [ascorbic acid]	12.6
2	Chứng (-) [DPPH/EtOH+ DMSO]	-
3	Rong VS	683
4	Rong SA	590

Bảng 3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của mẫu cao chiết phenolic từ rong *Padina crassa*

TT	Ký hiệu mẫu	Nồng độ ức chế 50% tế bào (IC ₅₀ , µg/mL)		
		MCF-7	HeLa	PC3
2	Rong SA	12.80	27.83	57.40
3	Rong VS	12.78	42.68	67.25

3.4. Nghiên cứu quá trình thu nhận fucoidan

Đã tiến hành nghiên cứu các yếu tố tác động tới quá trình chiết tách fucoidan gồm: (i) Xác định dung môi cho chiết tách fucoidan; (ii) Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu; (iii) Ảnh hưởng của nhiệt độ; (iv) Ảnh hưởng của thời gian và cường độ sóng siêu âm; (v) Ảnh hưởng của hàm lượng CaCl₂ đến độ sạch của fucoidan; (vi) Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến khả năng kết tủa thu nhận fucoidan từ dịch lọc.

Kết quả tối ưu cho thấy:

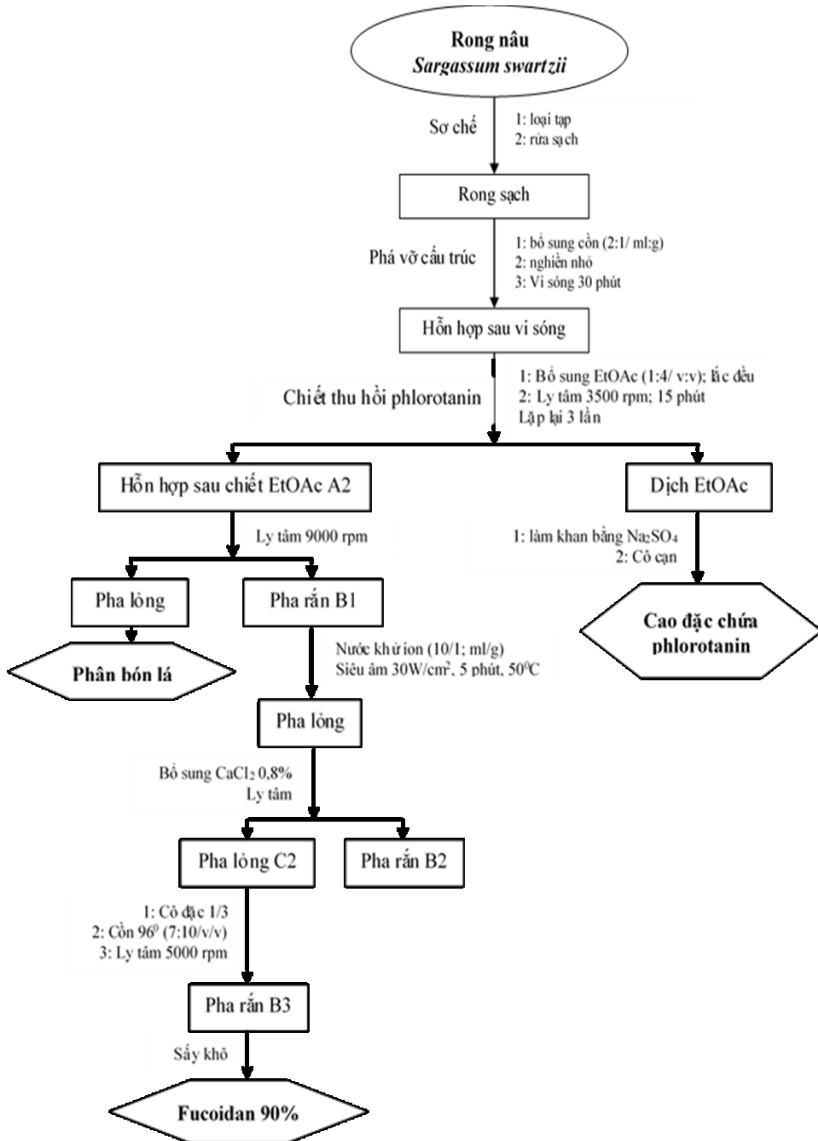
- Nước khử được chọn làm dung môi để chiết tách fucoidan của rong mơ bằng sóng siêu âm do dễ sản xuất, không độc hại, chi phí thấp và hiệu suất không chênh lệch so với dung môi HCL 0,1N.

- Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 8 (1/kg) phù hợp để chiết xuất fucoidan từ bã rong nâu bằng sóng siêu âm, giúp đảm bảo hiệu suất quy trình cũng như tối ưu hiệu quả kinh tế (giảm chi phí nguyên liệu, năng lượng...).

- Các thông số của quá trình siêu âm để chiết tách fucoidan từ rong mơ là: 40°C, cường độ siêu âm 58 w/cm², thời gian 3 phút.

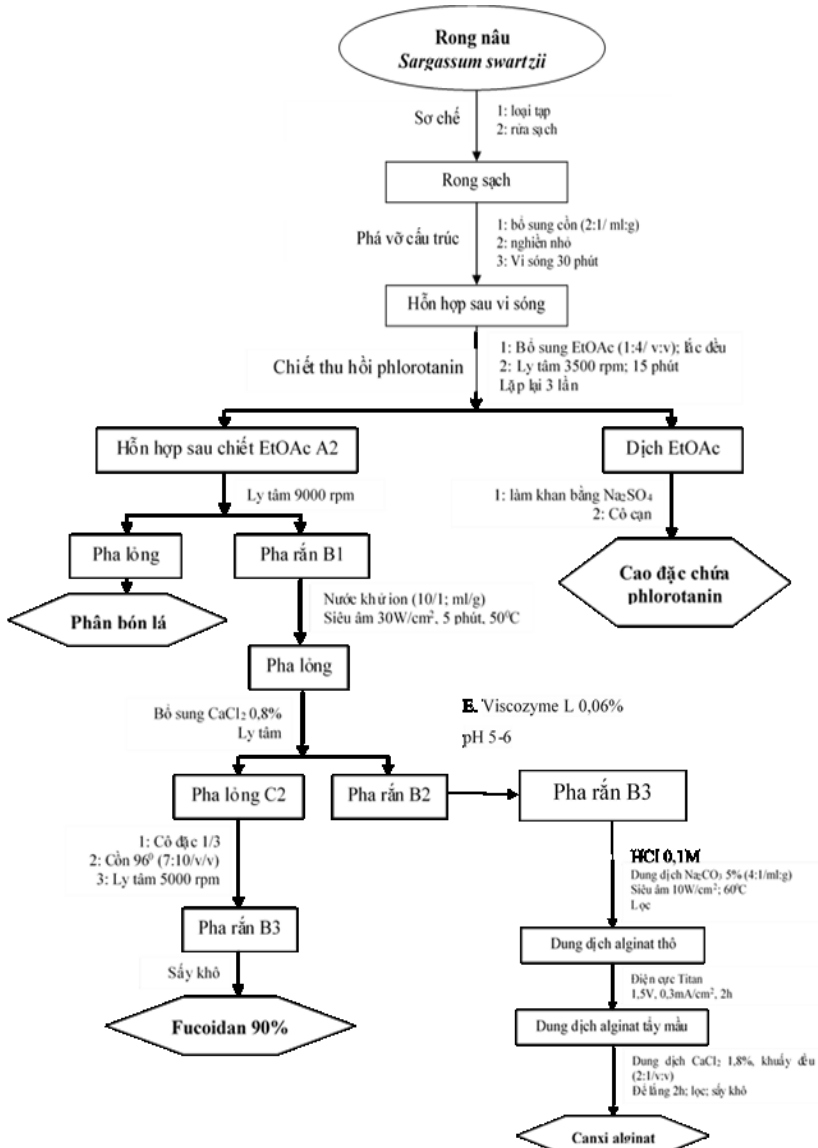
- Hàm lượng CaCl₂ để tủa axit alginic trong dịch chiết tách là 0,75 g CaCl₂/lít dịch chiết tách

- Nồng độ ethanol 60% là thích hợp để tủa thu hồi hoạt chất fucoidan từ dịch lọc.



Hình 3.3. Quy trình chiết xuất Fucoidan từ rong nâu

3.5. Nghiên cứu kỹ thuật chiết xuất alginate từ rong nâu



Hình 3.4. Quy trình chiết xuất alginate từ rong nâu

Kết quả nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết alginate từ rong nâu

Đã xác định được quá trình tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme đã làm tăng đáng kể hiệu suất thu hồi alginate. Điều kiện sau đây là tốt nhất cho quá trình phân giải cellulose thành tế bào bằng enzyme Htec2: pH = 4,5 - 5,0; Nhiệt độ thủy phân: 45°C; Nồng độ Htec2/cơ chất là 1,5%; Thời gian thủy phân: 6-8 giờ.

Đã xác định được điều kiện thu nhận alginate từ bã rong bằng sóng siêu âm: xác định hàm lượng alginat trong nguyên liệu, bã rong xử lý với tỷ lệ dung dịch HCl 0,1 M: bã rong là 10 (w/w) ở nhiệt độ phòng (nhiệt độ 25°C), xác định được điều kiện chiết tách alginate bằng sóng siêu âm chiết tách ở nhiệt độ 60°C, cường độ siêu âm 58 w/cm² (tần số 20 kHz)/ 6 phút, tỷ lệ dung dịch Na₂CO₃ 2%: bã rong là 10 (l/kg). Xác định được nồng độ CaCl₂ 10% với tỷ lệ tương ứng CaCl₂: Alginat = 2 (w/w) được chọn thích hợp để tủa thu hồi Ca(Alg)₂ từ NaAlg, tẩy trắng sản phẩm Ca(Alg)₂ bằng dung dịch NaOCl 5% với lượng tương ứng 2% H₂O₂ so với tủa Ca(Alg)₂ cho sản phẩm Ca(Alg)₂, có màu vàng nhạt đến trắng ngà.

3.6. Đánh giá chất lượng và một số hoạt tính của canxi alginate từ rong nâu

3.6.1. Đánh giá chất lượng của canxi alginate

Mẫu nghiên cứu có độ ẩm đạt giá trị 6.82%; hàm lượng tro đạt 31.08% và hàm lượng Alginic đạt 20.67%. Bên cạnh đó, hàm lượng canxi trong bột alginate rất cao từ 7-10%, cho thấy bột alginate rất tốt cho xương khớp.

Kết quả phân tích chỉ tiêu vi sinh vật cho thấy trong mẫu nghiên cứu có mặt các loại vi khuẩn *Coliform*, *S. Aureus*, *C. Perfringens*, *B.*

Cereus với hàm lượng ≤ 10 CFU/g và không có mặt của hai loại khuẩn gây bệnh là *E. Coli* và *Salmonella*. Kết quả này đáp ứng được tiêu chuẩn an toàn thực phẩm do Bộ Y tế ban hành.

Theo kết quả phân tích được trình bày trên Bảng 3.31, hàm lượng Cu, Zn có các giá trị ≤ 10 ppm; hàm lượng các kim loại nặng Pb, Cd, Hg thấp hơn rất nhiều. Các giá trị về hàm lượng các kim loại nặng đều nằm trong ngưỡng cho phép theo quy định an toàn thực phẩm của Bộ Y tế.

3.6.2. Đánh giá hoạt tính chống loãng xương

Canxi alginate ở nồng độ 20 μ g/ml thể hiện khả năng tăng cường tổng hợp collagen so với đối chứng âm, % collagen được tổng hợp là 111.10%. Ở nồng độ 4 μ g/ml, mẫu thử nghiệm có khả năng kích thích tạo khoáng nhẹ so với đối chứng âm, % khoáng được tổng hợp là 115.42% ($P < 0,05$).

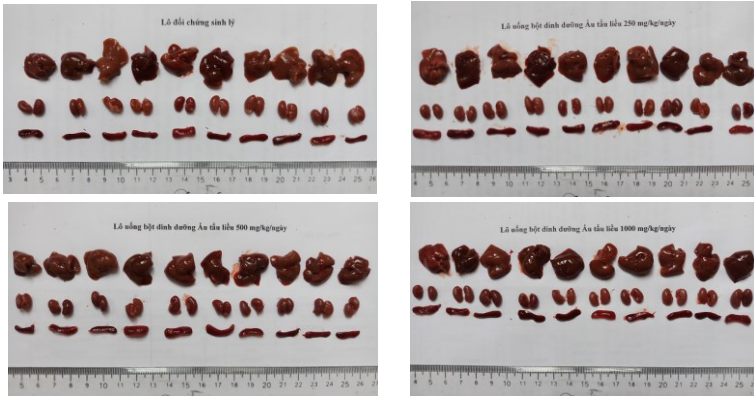
3.6.3. Kết quả nghiên cứu về độ an toàn

- Chế phẩm gelalginate không gây độc cấp tính cho chuột nhắt trắng theo đường uống với mức liều thử nghiệm tối đa là 2,5 g/kg thể trọng.

- Chế phẩm gelalginate liều 500 mg/kg/ngày khi cho uống bán trường diễn trong thời gian 28 ngày không làm ảnh hưởng đến sự tăng trọng lượng của chuột thí nghiệm so với đối chứng ($p > 0,05$), không làm ảnh hưởng đến các chỉ tiêu huyết học so với lô đối chứng ($p > 0,05$), không ảnh hưởng đến trọng lượng gan, thận, lách so với đối chứng ($p > 0,05$), không làm tăng chỉ số AST, ALT của gan so với đối chứng, không ảnh hưởng đến chỉ số enzyme thận cơ bản so với lô đối chứng ($p > 0,05$).

- Chế phẩm gelalginate liều 1000 mg/kg/ngày khi cho uống bán trường diễn trong thời gian 28 ngày không làm ảnh hưởng đến sự tăng

trọng lượng của chuột thí nghiệm so với đối chứng ($p>0,05$), không làm ảnh hưởng đến các chỉ tiêu huyết học khác so với lô đối chứng ($p>0,05$), không ảnh hưởng đến trọng lượng gan, thận, lách so với đối chứng ($p>0,05$), không làm tăng chỉ số AST, ALT của gan so với đối chứng.



Hình 3.5. Ảnh gan, thận, lách chuột sau khi thí nghiệm độc bán trường diễn

3.6.4. Đánh giá tác dụng đào thải kim loại nặng của chế phẩm alginate

Canxi alginate có tác dụng hỗ trợ đào thải kim loại nặng trên động vật bị nhiễm độc kim loại nặng. Cụ thể, đối với kết quả thí nghiệm in vitro trên động vật thí nghiệm vừa nêu ở trên. Với thời gian sử dụng canxi alginate liên tục 9 tuần với liều 0,1g/kg thể trọng/ngày giúp đào thải hàm lượng kim loại nặng ra khỏi cơ thể động vật đạt từ 60 - 70% tùy từng bộ phận cụ thể. Việc sử dụng kịp thời muối canxi alginate ngay sau khi nhiễm độc kim loại nặng sẽ cho hiệu quả đào thải độc cao hơn.

3.7. Nghiên cứu xử lý các phụ phẩm của quá trình chế biến

Phụ phẩm của quá trình chế biến rong sau khi chiết alginate chủ yếu là bã rong và một số dịch thải. Các thành phần này có độ pH khá cao (~ 10), vì vậy chúng tôi xử lý theo phương pháp sử dụng các chế phẩm vi sinh để lên men tạo phân bón hữu cơ.

Các chế phẩm được lựa chọn là EMZEO, EM-fert 1 và S.EM. Kết quả cho thấy, ba chế phẩm vi sinh lựa chọn đều hiệu quả trong việc xử lý các hợp chất hữu cơ từ bã rong nâu sau khi chiết fuicoidan và alginat. Nhóm phân giải cellulose hoạt động để đồng hóa cơ chất và là cơ sở cho các vi sinh vật khác hoạt động và phát triển. chế phẩm S.EM có tỷ lệ C/N 12,33 tốt nhất trong ba chế phẩm để nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả theo dõi quá trình ủ bã rong bằng chế phẩm S.EM cho thấy: Sau quá trình ủ 6 tuần, từ bã rong sau khi chiết alginat và fuicoidan có màu nâu, hơi vàng chuyển thành phân hữu cơ có màu đen, toí xốp, sờ thấy mềm tay, không có mùi hôi thối khó chịu.

Dưới tác dụng của hệ vi sinh vật trong chế phẩm vi sinh xử lý chất thải hữu cơ S.EM làm cho tính chất lý hóa của bã rong biển sau khi chiết fuicoidan và alginat có sự thay đổi nhất định. Hàm lượng OC giảm xuống còn các hàm lượng NTS; P₂O₅ và K₂O tăng.

Bảng 3.3. Một số chỉ tiêu đánh giá bã rong trước và sau khi ủ chế phẩm S.EM

TT	Chỉ tiêu đánh giá	Đơn vị	Trước khi ủ	Sau khi ủ
1	Cảm quan		Màu nâu nhạt, bã rong dai, cứng	Màu đen, xốp. mềm
2	OC	%	67.23	37.12
3	N _{TS}	%	1.34	3.01
4	P ₂ O ₅	%	0,05	0,20
5	K ₂ O	%	1,77	2,15

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Luận án đã đưa ra quy trình công nghệ chế biến toàn diện rong mơ *Sargasum. Sp.* thành các sản phẩm có giá trị cao như fucoxanthin, phlorotanin, fucoidan và alginat theo phương pháp tích hợp các kỹ thuật tiên tiến (enzyme, siêu âm, ly tâm 3 pha và lọc màng) hiệu quả với khả năng thu hồi đồng bộ và hiệu suất cao các sản phẩm và hạn chế tối đa chất thải từ nguồn nguyên liệu rất dồi dào, có sẵn trong tự nhiên.

2. Đã xây dựng quy trình công nghệ chiết xuất phenolic từ rong nâu theo phương pháp vi sóng; nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng và tối ưu hóa điều kiện chiết xuất phenolic từ rong nâu bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM); đã đánh giá hoạt tính chống oxi hóa và gây độc tế bào in vitro của phenolic ở mức trung bình.

3. Đã nghiên cứu quá trình tích hợp một số công nghệ tiên tiến để thu nhận alginate; nghiên cứu hoạt tính chống loãng xương, đánh giá độ an toàn và hiệu lực của chế phẩm gel canxi alginate. Kết quả cho thấy không ghi nhận độc tính của các chế phẩm ở liều kiểm định. Ở nồng độ 20 $\mu\text{g/ml}$ và 4 $\mu\text{g/ml}$, canxi alginat thể hiện có khả năng tăng cường hoạt động của enzyme ALP, tăng cường tổng hợp collagen và kích thích tạo khoáng ở mức có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm, cụ thể: % kích thích hoạt động ALP là 124,41% (20 $\mu\text{g/ml}$) và 118,16% (4 $\mu\text{g/ml}$); % collagen được tổng hợp 111,10% (20 $\mu\text{g/ml}$); % kích thích tạo khoáng 115,42% (4 $\mu\text{g/ml}$). Chế phẩm gel alginate ghi nhận tác dụng đào thải các kim loại nặng ở chuột khi sử dụng bắt đầu từ liều thử 0,1g/ kg chuột.

4. Đã khảo sát, đánh giá các loài rong nâu tại vùng biển Việt Nam, kết quả cho thấy: (i) Chi rong Mơ thuộc họ rong Nâu có tiềm năng lớn về trữ lượng cũng như chất lượng để phân lập alginate với

hàm lượng alginate trung bình lên tới trên 30%; (ii) Các mẫu rong có hàm lượng lipid tổng từ 0,07 tới 2,11%; đều có mặt các acid béo no, không no một nối đôi và đặc biệt là các acid béo không no đa nối đôi (PUFA).

5. Đã nghiên cứu dự đoán khả năng ức chế enzyme Tyrosinase của một số hợp chất chiết xuất từ chi rong mơ, qua đó định hướng phát triển sản phẩm làm trắng da từ các hoạt chất chiết xuất từ rong nâu.

Kiến nghị: (1) Tiếp tục nghiên cứu, định hướng tạo thêm một số sản phẩm giá trị khác từ rong nâu (chiết xuất hợp chất phlorotannin ứng dụng trong mỹ phẩm, chiết xuất khoáng vi lượng, vitamin, lipid... ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng...); (2) Tạo chế phẩm hoàn thiện từ gel alginate để giải độc kim loại.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Lần đầu tiên sử dụng tích hợp các kỹ thuật tiên tiến (chiết siêu âm, chiết vi sóng, chiết enzyme, lọc màng và ly tâm 3 pha) và công nghệ tích hợp kỹ thuật (siêu âm – enzyme, lọc màng, ly tâm 3 pha) tạo đồng thời các sản phẩm có giá trị từ một đối tượng rong nghiên cứu.

- Lần đầu tiên tiến hành nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện chiết xuất phenolic từ rong nâu theo phương pháp vi sóng bằng phương pháp đáp ứng bề mặt.

- Lần đầu tiên đã xây trình công nghệ sâu chiết xuất alginate từ rong mơ theo phương pháp tích hợp siêu âm và enzyme; nghiên cứu quá trình thu nhận alginate.

- Đã đánh giá hoạt tính chống loãng xương, độ an toàn và hiệu lực của chế phẩm gel canxi alginate và tác dụng đào thải các kim loại nặng ở chuột cho kết quả tốt.

- Đã sàng lọc được các hợp chất phenolic từ rong có tác dụng tốt làm trắng da thông qua docking phân tử, định hướng cho nghiên cứu tiếp theo về thực nghiệm.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Tran Quoc Toan, **Tran Duy Phong**, Dam Duc Tien, Nguyen Manh Linh, Nguyen Thi Mai Anh, Pham Thi Hong Minh, Le Xuan Duy, Do Huu Nghi, Hai Ha Pham Thi, Pham Tri Nhut, Ho Sy Tung, and Nguyen Quang Tung; Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phlorotannin From *Sargassum swartzii* (Turn.) C. Ag. With Ethanol/Water; Natural Product Communications. 2021, Vol 16(2): 1–11. Doi: 10.1177/1934578X21996184.

2. Trần Quốc Toàn; Phạm Quốc Long; Hoàng Thị Bích; **Trần Duy Phong**; Phạm Minh Quân; Quy trình chế biến rong mơ (Sargassum.SP) để thu các sản phẩm Fucoxanthin, Phlorotanin, Fucoidan và Alginat theo phương pháp sử dụng sóng siêu âm cường độ cao kết hợp enzym; GPHI thuộc Bằng độc quyền Giải pháp hữu ích số 2606, cấp theo quyết định số 3750w/QĐ-SHTT, 08/3/2021, Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam.

3. Đặng Thị Phương Ly, **Trần Duy Phong**, Trần Quốc Toàn, Đoàn Lan Phương, Trịnh Thu Hương, Đặng Thị Minh Tuyết, Đào Thị Kim Dung, Lại Phương Phương Thảo, Hoàng Thị Bích, Phạm Minh Quân, Đàm Đức Tiến, Lưu Văn Huyền, Phạm Quốc Long; Bước đầu đánh giá hàm lượng Lipid và thành phần Acid béo của một số loài rong nâu khu vực biển Bắc và trung Trung Bộ - Việt Nam; Tuyển tập báo cáo khoa học Diễn đàn khoa học toàn quốc, 2019, 579-585.

4. Trịnh Thị Thu Hương, Đào Thị Kim Dung, Phạm Thu Huệ, Lê Tất Thành, Đỗ Thị Thảo, Nguyễn Thị Cúc, Phạm Minh Quân, Trần Quốc Toàn, **Trần Duy Phong**, Phạm Quốc Long; Đánh giá chỉ tiêu sinh hóa và hoạt tính chống loãng xương của hoạt chất canxi alginat từ nguồn rong biển Việt Nam; Tuyển tập báo cáo khoa học Diễn đàn khoa học toàn quốc, 2019.