

**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**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Mã số: 9 52 03 01

Hà Nội - 2024

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:

Người hướng dẫn khoa học 1: *GS. TS. Phạm Quốc Long, Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam*

Người hướng dẫn khoa học 2: *PGS. TS. Trần Quốc Toàn, Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam*

Phản biện 1: GS. TS Phạm Văn Thiêm

Phản biện 2: PGS. TS Nguyễn Tuấn Anh

Phản biện 3: TS. Vũ Mạnh Hùng

Luận án 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 9 giờ 00', ngày 23 tháng 03 năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Tran Quoc Toan, **Trần 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, 2021, Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phlorotannin From *Sargassum swartzii* (Turn.) C. Ag. With Etanol/Water, *Natural Product Communications*, 16 (2), pp. 1-11.
2. Trần Quốc Toàn, Phạm Quốc Long, Hoàng Thị Bích, **Trần Duy Phong**, Phạm Minh Quân, GPHI thuộc Bằng độc quyền Giải pháp hữu ích số 2606 “*Quy trình chế biến rong Mơ (Sargassum.SP) để thu các sản phẩm Fucoxanthin, Phlorotanin, Fucoidan và Alginate theo phương pháp sử dụng sóng siêu âm cường độ cao kết hợp enzym*”, 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, 2019, Bước đầu đánh giá hàm lượng Lipid và thành phần Axit béo của một số loài rong Nâu khu vực biển Bắc và trung Trung Bộ - Việt Nam, *Tuyển tập hội nghị khoa học biển*, tr. 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, 2019, Đánh giá chỉ tiêu sinh hóa và hoạt tính chống loãng xương của hoạt chất canxi alginate từ nguồn rong biển Việt Nam, *Tuyển tập hội nghị khoa học biển*, tr. 572-578.

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 sử dụng tích hợp các kỹ thuật tiên tiến như siêu âm, vi sóng, enzyme, ly tâm tốc độ cao... để xây dựng quy trình công nghệ chế biến toàn diện rong Nâu thành các sản phẩm có giá trị cao (phenolic, fucoidan, alginate...), xử lý phụ phẩm của quá trình chế biến, đồng thời đánh giá chất lượng sản phẩm và một số hoạt tính sinh học của chế phẩm bột Canxi alginate.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Khảo sát hàm lượng alginate, hàm lượng acid béo và lớp chất lipid; Nghiên cứu dự đoán khả năng ức chế enzyme Tyrosinase của một số hợp chất chiết xuất từ chi rong Mơ, ngành rong Nâu bằng phương pháp sàng lọc ảo (*in silico docking*).

- Xây dựng quy trình công nghệ chế biến toàn diện rong Nâu thành các sản phẩm có giá trị cao như phenolic, fucoidan và alginate bằng các kỹ thuật tiên tiến (vi sóng, enzyme, siêu âm, ly tâm tốc độ cao...) và nghiên cứu xử lý phụ phẩm của quá trình chế biến.

- Sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt để tối ưu hóa công nghệ chiết xuất phenolic từ rong Nâu theo phương pháp hỗ trợ vi sóng.

- Đánh giá chất lượng, hoạt tính sinh học của chế phẩm Canxi alginate.

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.

Tính đến năm 2013, ở Việt Nam đã ghi nhận được 827 loài, thuộc 4 ngành là rong Lam (Cyanophyta), rong Đỏ (Rhodophyta), rong Nâu (Ochrophyta) và rong Lục (Chlorophyta). Đến nay, vẫn chưa có công trình nào đánh giá được tổng trữ lượng rong biển trên toàn vùng biển Việt Nam bởi các nghiên cứu thường chỉ được tiến hành ở từng khu vực riêng biệt và mới đưa ra trữ lượng của một số loài rong biển kinh tế tại thời điểm nghiên cứu. Một số chương trình điều tra, đánh giá nguồn lợi rong biển đưa ra trữ lượng chi rong Mơ (Sargassum) thuộc ngành rong Nâu của Việt Nam vào khoảng 35.000 – 75.000 tấn.

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% chất khô), protein (3-24% chất khô), lipid (0,3-4,8% chất khô), tro (14-45% chất khô). 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, thực phẩm, công nghiệp nhẹ...

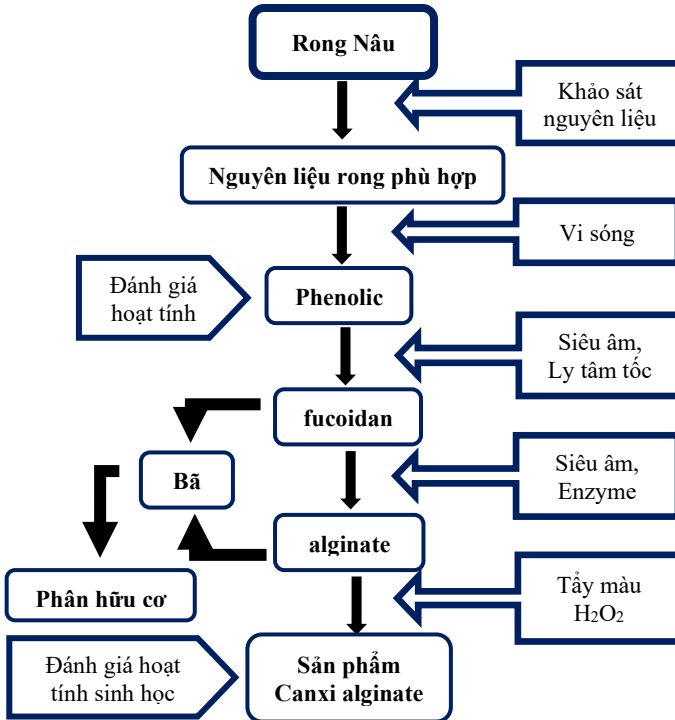
1.2. Các công nghệ chế biến rong Nâu

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)

1.3. Định hướng nghiên cứu



Hình 1.1. Sơ đồ định hướng nghiên cứu

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Mẫu rong Nâu được thu mẫu tại một số vùng biển Việt Nam bằng phương pháp lấy mẫu trực tiếp và phương pháp lặn sâu. Công việc này phải được tiến hành bởi các nhà khoa học lặn có trình độ chuyên môn tương ứng. Sau khi thu thập, mẫu rong được loại tạp và rửa sạch lại bằng nước biển sau đó phơi khô đến độ ẩm dưới 35%, 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.

Hóa chất và thiết bị nghiên cứu của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

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 ảo (in silico docking)

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 mẫu

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

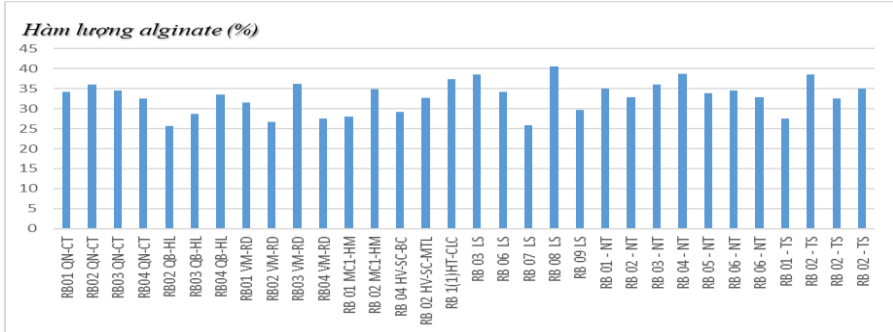
2.3.6. Phương pháp thử hoạt tính chống oxi hóa

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

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu, khảo sát một số mẫu rong Nâu nguyên liệu

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



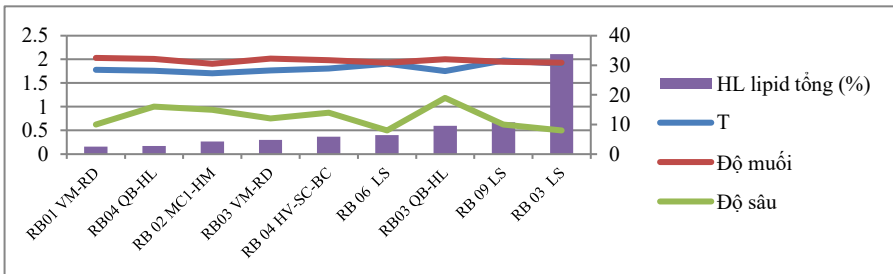
Hình 3.1. Hàm lượng alginate trong một số mẫu rong Nâu

Qua nghiên cứu, đánh giá hàm lượng alginate và sản lượng của các loại rong Nâu, ta có thể lựa chọn các loài thuộc chi rong Mơ là *S. Mcclurei*, *S. swartzii* và *S. polycystum* để tiến hành các nghiên cứu chiết xuất alginate.

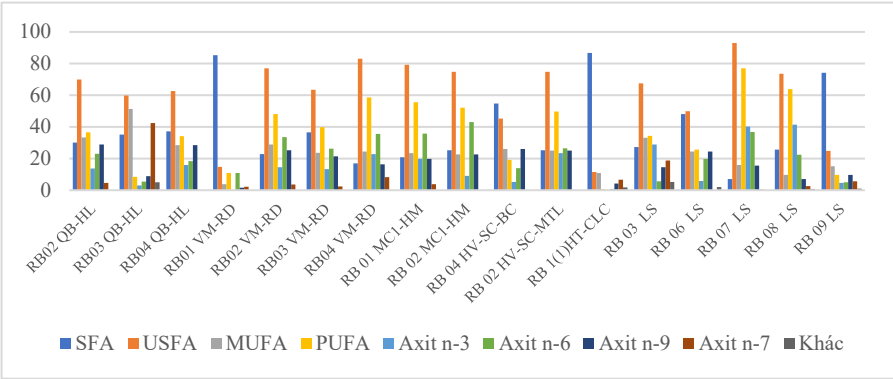
Bảng 3.1. Thành phần hóa học chính của một số loại rong Mơ

STT	Tên loài rong	Thành phần hóa học chính (%)						
		Protein	Lipit	Tro	Sulfat	Alginate	Laminaran	Fucoidan
1	<i>S. mcclurei</i>	5,5	1,9	37,8	4,9	32,1	0,08	2,4
2	<i>S. swartzii</i>	7,0	0,5	30,2	5,8	29,5	0,29	0,82
3	<i>S. polycystum</i>	3,1	0,6	46,3	3,9	29,7	0	2,7

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

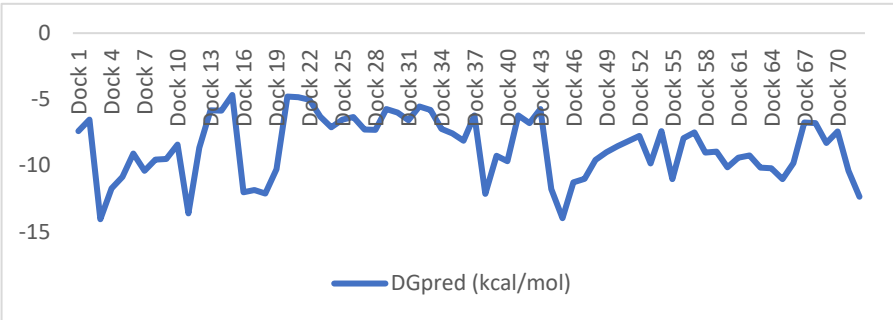


Hình 3.2. Kết quả về hàm lượng lipid tổng các mẫu rong Nâu



Hình 3.3. Hàm lượng axit béo trong các mẫu rong Nâu được khảo sát

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

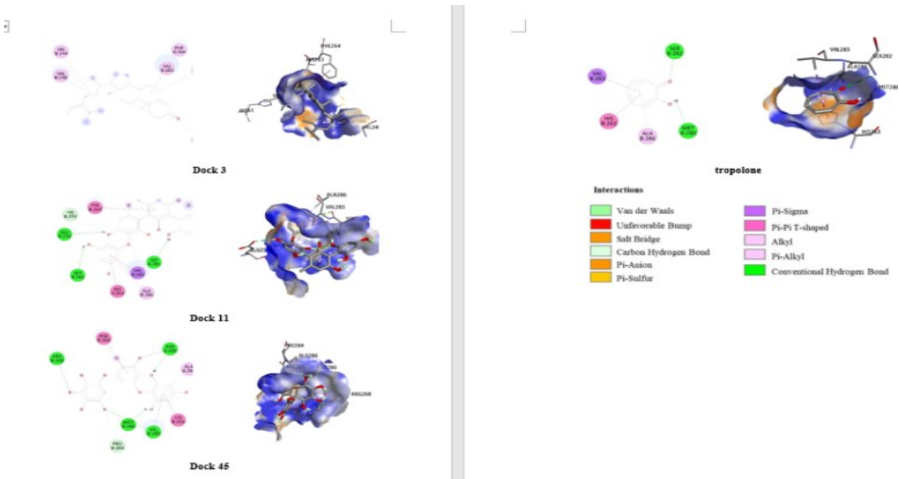


Hình 3.4. Kết quả dự đoán năng lượng liên kết của các hợp chất với enzyme tyrosinase

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. 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.

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. Do đó, có thể định hướng rằng hợp chất 3 không phải là chất ức chế tiềm năng với đích thụ thể nghiên cứu.



Hình 3.5. Cấu hình liên kết trong không gian hai chiều và ba chiều được dự đoán bởi phần mềm AutoDock4.2.6 của các hợp chất

Hợp chất 11 và 45 có giá trị HIA lần lượt là 0,9897 và 0,8692. Điều này cho thấy khả năng hấp thụ cao trong đường ruột, có thể nhận định hợp chất 11 có tiềm năng trong phát triển thuốc cao hơn so với hợp chất 45 nhờ vượt trội ở các chỉ số ADMET.

Bảng 3.2. Dự đoán độc tính của các chất ức chế tiềm năng

Hợp chất	MW	HBD	HBA	LogP	MR (cm ³ /mol)	LD ₅₀ (mg/kg)	Toxicity prediction ^a	HIA
Dock 11	496	10	11	4,17	125,21	600	4	0,9897
Dock 45	406	9	11	2,19	94,24	550	4	0,8692
tropolone	122	1	2	1,12	33,99	385	4	0,9923

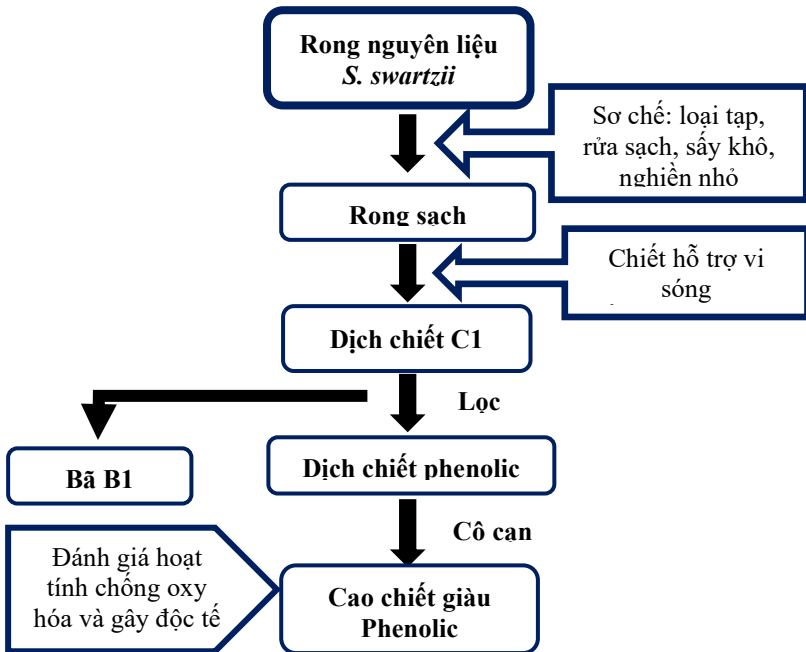
3.1.4. Lựa chọn rong nguyên liệu cho quy trình công nghệ

Qua kết quả nghiên cứu, khảo sát một số mẫu nguyên liệu rong Nâu, có thể nhận thấy: (1) Chi rong Mơ (*Sargassum*) thuộc ngành rong Nâu xuất

hiện hầu hết tại các vùng biển Việt Nam, có hàm lượng alginate trung bình lên tới trên 30%, (2) Các mẫu rong Mơ có hàm lượng lipid tổng từ 0,07 tới 2,11%; đều có mặt các axit béo no, không no một nối đôi và đặc biệt là các axit béo không no đa nối đôi (PUFA); (3) Hợp chất số 11 (difucodiphloretol A) được phân lập từ chi rong Mơ có tiềm năng trong phát triển thuốc ức chế enzyme tyrosinase.

Định hướng nghiên cứu tập trung vào việc chiết xuất alginate để tạo chế phẩm Canxi alginate, đồng thời hướng đến việc ứng dụng quy trình vào sản xuất ở quy mô công nghiệp (yêu cầu trữ lượng nguyên liệu lớn), do đó mẫu rong *S. swartzii* thuộc chi rong Mơ, ngành rong Nâu thu tại Cô Tô, Quảng Ninh (Quý II/2019) được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Kỹ thuật chiết xuất phenolic từ rong Mơ



Hình 3.6. Sơ đồ chiết phenolic trong rong Mơ

3.2.1. Kết quả nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết phenolic từ rong Mơ 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.

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

Hàm lượng phenolic 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 475W và đánh giá hàm lượng phenolic và khối lượng cao chiết cho thấy: Hàm lượng phenolic 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.

3.2.3. Đánh giá hoạt tính của cao chiết phenolic

Bảng 3.3. 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	Mẫu vi sóng	683
4	Mẫu siêu âm	590

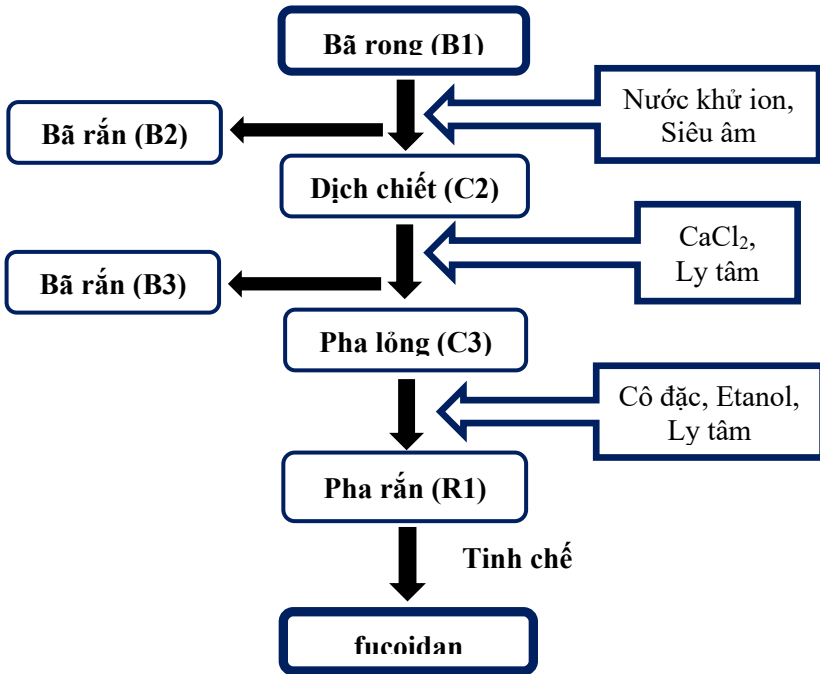
Bảng 3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của cao chiết phenolic

TT	Ký hiệu mẫu	Nồng độ ức chế 50% tế bào (IC ₅₀ , µg/mL)		
		MCF-7	HeLa	PC3
1	Paclitaxel	0,38	0,55	0,34
2	Mẫu siêu âm	12,80	27,83	57,40
3	Mẫu vi sóng	12,78	42,68	67,25

Kết quả cho thấy mẫu cao chiết phenolic có hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào ở mức trung bình, mẫu cao chiết phenolic bằng phương pháp siêu âm có hoạt tính tốt hơn so với mẫu vi sóng.

3.3. Nghiên cứu quá trình thu nhận fucoidan

3.3.1. Quy trình công nghệ chiết xuất fucoidan từ bã rong



Hình 3.7. Sơ đồ chiết fucoidan từ bã rong Mơ

Sau khi chiết phenolic, bã rong còn lại có hàm lượng alginate, protein và tro giảm không đáng kể do các chất này không tan trong etanol, vì vậy có thể sử dụng bã rong này để chiết lấy fucoidan và alginate.

Thuyết minh quy trình

Phần bã rắn B1 (thu được sau khi chiết phenolic) sẽ được xử lý để chiết thu hồi fucoidan.

Bước 1: Hỗn hợp chất rắn B1 được bổ sung nước khử ion theo tỉ lệ xác định, khuấy đều sau đó siêu âm ở các giá trị công suất, thời gian và nhiệt độ khác nhau, lọc thu dung dịch, thu được dịch lọc C2 và phần chất rắn B2.

Bước 2: Phần dịch lọc C2 được bổ sung CaCl_2 , ly tâm được phần chất rắn B3 và pha lỏng C3.

Bước 3: Phần chất lỏng C3 được cô cạn dưới áp suất giảm. Bổ sung etanol 96⁰ theo tỉ lệ xác định, ly tâm ở tốc độ cao thu được Pha rắn R1. Phần chất rắn này được tinh chế để thu nhận fucoidan.

3.3.2. Kết quả nghiên cứu quá trình thu nhận fucoidan

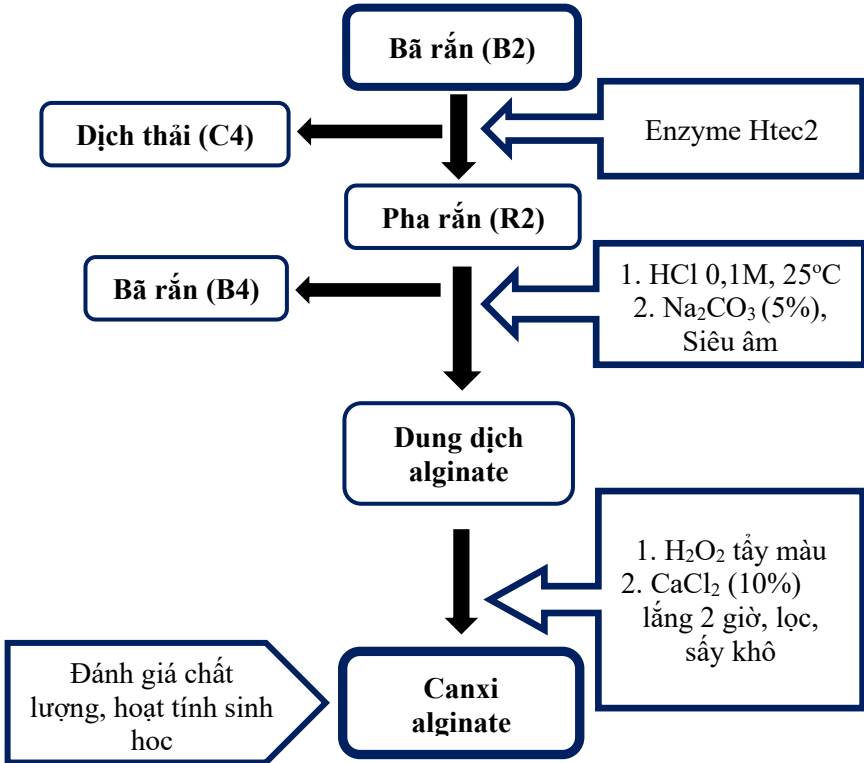
Tiến hành khảo sát các yếu tố tác động tới quá trình chiết tách fucoidan bằng phương pháp siêu âm gồm: **(i)** Xác định dung môi cho chiết tách fucoidan (HCl, nước khử ion, CaCl_2); **(ii)** Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi: nguyên liệu (6:1, 7:1, 8:1, 9:1 ml/g); **(iii)** Ảnh hưởng của nhiệt độ (25, 30, 40, 50, 60, 70°C) thời gian (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 phút) và cường độ sóng siêu âm (40, 50, 58 W/cm²); **(iv)** Ảnh hưởng của hàm lượng CaCl_2 đến độ sạch của fucoidan (0,25; 0,50; 0,75, 1,00, 1,25 g CaCl_2 /lít dịch chiết); **(v)** Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến khả năng kết tủa thu nhận fucoidan từ dịch lọc (50, 55, 60, 65, 70%).

Kết quả nghiên cứu cho thấy: **(i)** 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; **(ii)** Tỷ lệ dung môi: nguyên liệu là 8/1 (ml/g) phù hợp để chiết xuất fucoidan từ bã rong 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...); **(iii)** 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; (iv) Hàm lượng CaCl₂ để tủa axit alginic trong dịch chiết tách là 0,75 g CaCl₂/lít dịch chiết tách; (v) Nồng độ ethanol 60% là thích hợp để tủa thu hồi hoạt chất fucoidan từ dịch lọc.

3.4. Nghiên cứu kỹ thuật chiết xuất alginate từ rong Mơ

3.4.1. Quy trình công nghệ chiết xuất alginate



Hình 3.8. Sơ đồ chiết alginate từ bã rong Mơ

Sau khi chiết fucoidan, hàm lượng alginate trong bã rong giảm không đáng kể, vì vậy có thể sử dụng bã rong này để chiết lấy alginate.

Thuyết minh quy trình

Bước 1: Phần bã rỗng B2 được bổ sung enzyme Htec2 theo tỉ lệ xác định (enzyme/ cơ chất) tại pH=5, tiến hành trong thời gian và nhiệt độ xác

định, sau đó hạ nhiệt độ hỗn hợp về nhiệt độ phòng. Sau quá trình xử lý enzyme, ta thu được pha rắn R2 và dịch thải (C4).

Bước 2: Bã rắn R2 được ngâm trong dung dịch HCl 0,1M ở 25°C, lọc hỗn hợp thu lấy phần chất rắn, đem rửa bằng nước sạch rồi bổ sung NaCl 5% và siêu âm. Hỗn hợp thu được để nguội đến nhiệt độ phòng, sau đó tiến hành lọc thu dung dịch alginate thô và bã rắn B4.

Bước 3: Dung dịch alginate thô được bổ sung từ từ dung dịch H₂O₂ 5%, khuấy đều trong 15 phút rồi bổ sung từ từ CaCl₂ 10%, để lắng trong 2 giờ rồi tiến hành lọc và sấy khô thu được chế phẩm canxi alginate.

3.4.2. Kết quả nghiên cứu quá trình thủy phân nguyên liệu bởi enzyme

Bảng 3.5. Khảo sát tác động của việc xử lý nguyên liệu với enzyme

Enzyme	Đường khử ($\mu\text{g/ml}$)	Alginate (%)	Độ nhớt (1%) ($mPa.S$)
Đối chứng	0	51,43 \pm 0,24	235
Rong thô + enzyme	27,13 \pm 0,32	59,21 \pm 0,21	230
Rong đã chiết	0	63,32 \pm 0,15	238
Rong đã chiết + enzyme	55,25 \pm 0,24	75,01 \pm 0,24	233

Quá trình tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme đã làm tăng đáng kể hiệu suất thu hồi alginate. Các 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 từ 6-8 giờ.

3.4.3. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình chiết xuất alginate

Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất alginate (hiệu suất và độ nhớt) sau khi xử lý enzyme, gồm: (i) Ảnh hưởng của nồng độ HCl (0,0; ; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2M) và Na₂CO₃ 5% (bổ sung tỷ lệ so với nguyên liệu là 1; 1,5; 2; 2,5; 3%) để xử lý bã rong; (ii) Ảnh hưởng của nhiệt độ (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100°C), thời gian (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 phút) và cường độ siêu âm (0, 40, 50, 58W/cm²).

Kết quả nghiên cứu cho thấy các thông số phù hợp cho quy trình chiết alginate từ bã rong bằng phương pháp siêu âm là: **(i)** Nguyên liệu được xử lý bằng HCl với nồng độ 0,1M ở 25°C, sau đó tiếp tục bổ sung dung dịch Na₂CO₃ 5% với tỷ lệ so với nguyên liệu là 2%; **(ii)** Chiết alginate bằng siêu âm ở nhiệt độ 60°C, cường độ siêu âm 58 w/cm² trong 6 phút.

3.4.4 Nghiên cứu quá trình thu nhận sản phẩm Canxi alginate

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thu nhận sản phẩm Canxi alginate, gồm: **(i)** Ảnh hưởng của tỷ lệ dung dịch H₂O₂ 5% đến quá trình tẩy trắng alginate (bổ sung tỷ lệ so với nguyên liệu là 0,5; 0,75; 1,00; 1,25; 2,00; 2,25; 2,50; 2,75%); **(ii)** Ảnh hưởng của tỷ lệ CaCl₂ 10% đến hiệu suất thu nhận bột Canxi alginate (CaCl₂/nguyên liệu: 1/1, 1,25/1, 1,5/1, 1,75/1, 2/1, 2,25/1, 2,5/1 ml/ml).

Kết quả nghiên cứu cho thấy: **(i)** Tẩy trắng bằng dung dịch H₂O₂ 5% với lượng tương ứng 2% H₂O₂ so với NaAlg là phù hợp; **(ii)** Bổ sung nồng độ CaCl₂ 10% với tỷ lệ tương ứng CaCl₂/dịch alginate tẩy màu = 2/1 (ml/ml) để tủa thu hồi Ca(Alg)₂ từ NaAlg.

3.5. Đánh giá chất lượng và một số hoạt tính của Canxi alginate

3.5.1. Đánh giá chất lượng của canxi alginate

Bảng 3.6. Xác định chỉ tiêu chất lượng chính

TT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng
1	Độ ẩm	%	6,82%
2	Hàm lượng tro tổng	%	31,08%
3	Hàm lượng canxi	%	7-10%
4	Hàm lượng alginic	%	20,67%
5	pH		6,0-7,5
6	Độ nhớt (dd 1%)	(mPa.S)	235

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 Canxi alginate rất tốt cho xương khớp.

Bảng 3.7. Kết quả phân tích chỉ tiêu vi sinh vật

TT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng	Mức chất lượng theo QCVN*
1	Tổng số VSV hiếu khí	CFU/g	≤ 1000	≤ 5000
2	Tổng số bào tử nấm mốc, nấm men	CFU/g	≤ 100	≤ 500
3	<i>Coliform</i>	CFU/g	≤ 10	
4	<i>E. coli</i>	CFU/g	Âm tính	Âm tính
5	<i>S. aureus</i>	CFU/g	≤ 3	
6	<i>C. perfringens</i>	CFU/g	≤ 10	
7	<i>B. Cereus</i>	CFU/g	≤ 10	
8	<i>Salmonella</i>	CFU/25g	Âm tính	Âm tính

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 ≤ 10CFU/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.

Bảng 3.8. Chỉ tiêu hàm lượng kim loại nặng

TT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng	Mức chất lượng theo QCVN*
1	Hàm lượng Pb	ppm	≤ 3,0	≤ 5,0
2	Hàm lượng Cd	ppm	≤ 0,1	≤ 3,0
3	Hàm lượng Hg	ppm	≤ 1,0	≤ 1,0
4	Hàm lượng Đồng	ppm	≤ 10	
5	Hàm lượng kẽm	ppm	≤ 10	

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.

3.5.2. Đánh giá hoạt tính chống loãng xương

Canxi alginate ở nồng độ 20 µg/ml thể hiện khả năng tăng cường tổng hợp collagen so với đối chứng âm, % collagen được tổng hợp là 111,10%. Ở

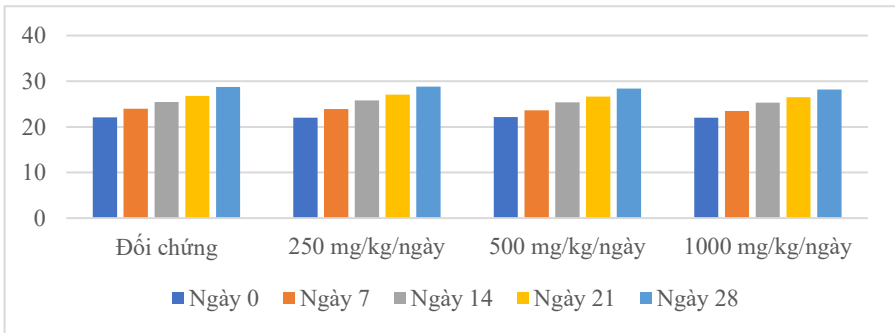
nồng độ 4 $\mu\text{g/ml}$, mẫu thử nghiệm có khả năng kích thích tạo khoáng nhẹ so với đối chứng âm, % khoáng được tổng hợp là 115,42% ($P < 0,05$).

3.5.3. 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.



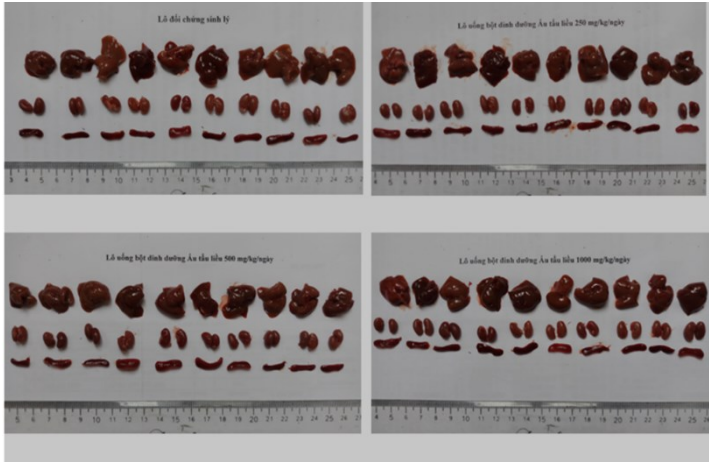
Hình 3.9. Ảnh chuột sau khi thí nghiệm độc cấp tính



Hình 3.10. Sự thay đổi trọng lượng chuột sau khi cho uống Canxi alginate

- 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 3.11. Ảnh gan, thận, lách chuột sau khi thí nghiệm độc bán trường diễn

3.5.4. **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.

3.6. **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.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của loại chế phẩm đến tỷ lệ C/N khô ủ

TT	Chế phẩm	C _{TS}	N _{TS}	Tỷ lệ C/N
1	Không bổ sung chế phẩm	67,23	1,34	50,17
2	Chế phẩm EMZEO	39,54	2,56	15,45
3	Chế phẩm EM-fert 1	39,77	2,67	14,90
4	Chế phẩm S.EM	37,12	3,01	12,33

Chế phẩm chế phẩm S.EM có tỷ lệ C/N 12,33 tốt nhất, được lựa chọn cho các 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, toai xốp, sờ thấy mềm tay, không có mùi hôi thối khó chịu.



(a)



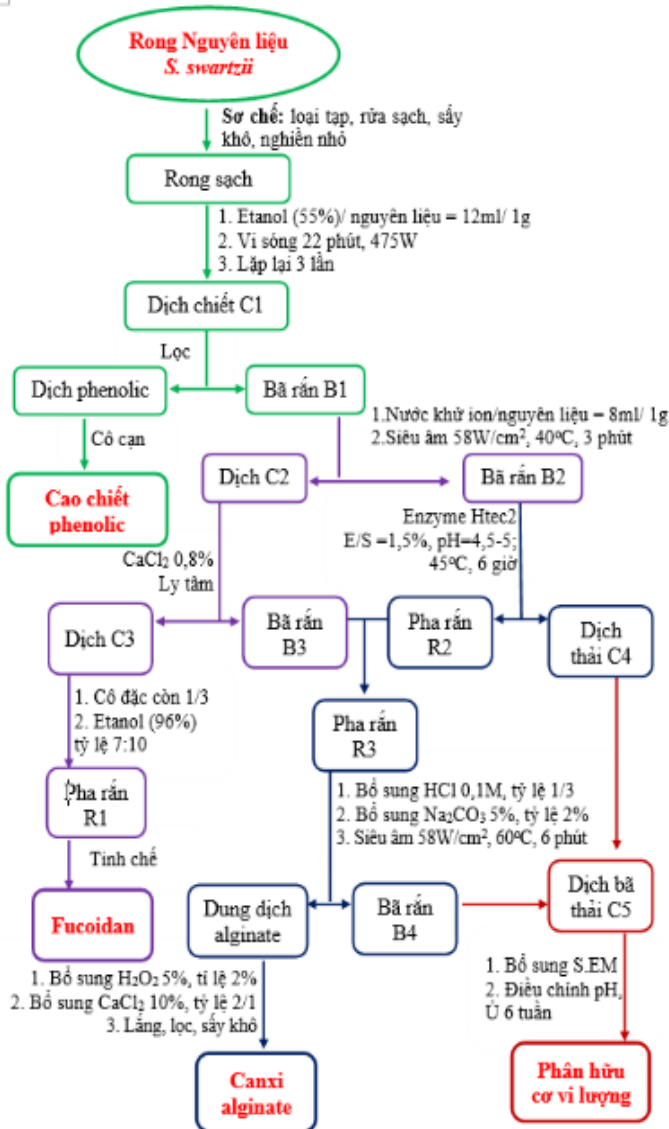
(b)

Hình 3.12. Bã rong trước khi ủ (a) và sau khi ủ (b)

Dưới tác dụng của hệ vi sinh vật trong chế phẩm S.EM, tính chất lý hóa của bã rong biển có sự thay đổi nhất định. Hàm lượng OC giảm xuống, các hàm lượng NTS; P₂O₅ và K₂O tăng. Như vậy, việc bổ sung vi sinh vật hữu ích rất cần thiết cho quá trình ủ, làm tăng khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ trong bã rong thành chất mùn.

3.7. Xây dựng quy trình công nghệ tích hợp chế biến các sản phẩm từ rong Mơ

3.7.1. Sơ đồ và thuyết minh quy trình



Hình 3.13. Sơ đồ quy trình chế biến toàn diện rong Mơ

Thuyết minh quy trình

Bước 1: Sơ chế nguyên liệu.

Mẫu rong sau khi thu hoạch được làm sạch, loại bỏ rong lạ và sinh vật bám trên rong, rửa sạch bằng nước biển sau đó rửa sạch lại bằng nước ngọt, sấy khô sau đó bảo quản ở nhiệt độ 5-10°C trước khi sử dụng. Khi sử dụng cần nghiền nhỏ bằng máy nghiền chuyên dụng.

Bước 2: Chiết và thu cao phenolic có hỗ trợ vi sóng.

Rong sau khi sơ chế được bổ sung etanol 55% (tỷ lệ dung môi: nguyên liệu rong là 12ml : 1g), tiến hành chiết với sự hỗ trợ của lò vi sóng ở mức công suất 475W trong 22 phút, lặp lại 3 lần.

Hỗn hợp dịch sau khi chiết (C1) được lọc và thu được dịch phenolic và hỗn hợp bã rắn (B1). Dịch phenolic được cô đặc dưới áp suất giảm thu được hỗn hợp cao chiết phenolic.

Bước 3: Chiết fucoidan bằng siêu âm kết hợp ly tâm tốc độ cao

Hỗn hợp bã rắn B1 được bổ sung nước khử ion (tỷ lệ 10ml : 1g bã rắn) và tiến hành siêu âm với công suất 58W/cm² ở 40°C trong 3 phút. Lọc hỗn hợp sau siêu âm thu được dịch chiết (C2) và bã rắn (B2).

Dịch chiết (C2) được bổ sung CaCl₂ 0,8%, khuấy đều trong 1 giờ sau đó ly tâm thu được pha lỏng (C3) và bã rắn (B3). Pha lỏng C3 được cô đặc đến 1/3 thể tích sau đó bổ sung etanol 96⁰ (tỷ lệ so với dịch cô đặc là 7ml : 10 ml), để yên trong 1 giờ rồi ly tâm ở tốc độ 10.000 rpm thu được pha rắn (R1), đem tinh chế lại thu được fucoidan sạch.

Bước 4: Chiết alginate bằng siêu âm, tẩy màu, thu Canxi alginate

Bã rắn B2 được thủy phân cellulose bằng enzyme Htec2 ở nồng độ 1,5% (enzyme/ cơ chất), điều chỉnh pH trong khoảng 4,5 – 5, nhiệt độ 45°C trong 6 giờ. Kết thúc quá trình thủy phân, hỗn hợp được để nguội đến nhiệt độ phòng, tiến hành lọc, ly tâm thu được pha rắn (R2) và dịch thải (C4).

Pha rắn R2 được gom chung với bã rắn B3, thu được hỗn hợp rắn R3, đem xử lý với dung dịch HCl 0,1 M (tỷ lệ 1/3) ở 25°C, lọc hỗn hợp thu lấy phần chất rắn. Phần chất rắn được rửa lại bằng nước sạch rồi bổ sung 2%

dung dịch Na_2CO_3 5%, siêu âm với công suất 58 W/cm^2 ở 60°C trong 6 phút. Để nguội hỗn hợp đến nhiệt độ phòng sau đó tiến hành lọc để thu được dung dịch alginate thô và bã rắn B4.

Dung dịch alginate thô được bổ sung từ từ dung dịch H_2O_2 5% theo tỉ lệ 2%, khuấy đều trong 15 phút rồi bổ sung từ từ dung dịch CaCl_2 10% theo tỷ lệ 2/1; để lắng trong 2 giờ rồi tiến hành lọc và sấy khô thu được sản phẩm Canxi alginate.

Bước 5: Xử lý phụ phẩm tạo phân hữu cơ vi lượng

Gom dịch thải C4 với bã thải B4 thành dịch bã thải C5, đem xử lý với chế phẩm vi sinh S.EM, ổn định pH và ủ trong 6 tuần để thu được chế phẩm phân bón hữu cơ vi lượng.

Bảng 3.10. Hiệu quả sản xuất ở quy mô 5 kg nguyên liệu rong/mẻ

Mẻ sản xuất	Khối lượng nguyên liệu (kg)	Khối lượng Canxi alginate (g)	Hàm lượng alginate (%)	Hàm lượng canxi (%)	Khối lượng fucoidan (g)	Khối lượng cao chiết Phenolic (g)
1	5	212	80,1	5,8	14,5	8,50
2	5	209	81,2	6,2	15,1	8,81
3	5	209	80,23	5,7	15,0	8,49
4	5	214	81,5	5,5	14,8	8,53
5	5	210	80,9	5,7	15,2	8,55
6	5	213	81,3	6,1	15,5	8,48
7	5	212	81,5	6,0	14,9	8,52
8	5	215	81,7	6,3	15,3	8,50
9	5	218	82,0	6,2	14,8	8,54
10	5	220	80,6	5,9	15,2	8,53



Hình 3.13. Chế phẩm bột Canxi alginate

3.7.2. Đánh giá hiệu quả các quy trình, phương án chiết xuất khác nhau

Bảng 3.12. Hiệu suất chiết theo các phương án kỹ thuật khác nhau

Phương án	Hàm lượng sản phẩm (% tính theo lượng khô của nguyên liệu)		
	Phenolic tổng	fucoidan	alginate
1: Chiết không dùng vi sóng, siêu âm, enzyme	0,015	1,23	8,24
2: Chiết dùng enzyme, không dùng siêu âm và vi sóng	0,088	1,97	16,6
3: Chiết dùng siêu âm, vi sóng và không dùng enzyme	0,112	2,51	24,5
4: Chiết dùng siêu âm và enzyme, không dùng vi sóng	0,182	2,78	28,7
5: Chiết tích hợp dùng vi sóng, siêu âm, enzyme	0,174	2,83	32,2

Việc tích hợp các kỹ thuật tiên tiến nâng cao rõ rệt hiệu quả chiết. Phương án 4 (chiết sử dụng siêu âm, enzyme) và phương án 5 (tích hợp vi sóng, siêu âm, enzyme) cho hiệu quả chiết tốt nhất.

Bảng 3.13. So sánh hiệu suất chiết với một số nghiên cứu khác

Phương án chiết xuất	Phenolic tổng	Fucoidan	Alginate
Theo kết quả nghiên cứu của Lê Đức Giang và Cs [127]	-	-	12,13-35,87%
Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Nguyên [128]	-	1,98-3,7%	-
Theo kết quả nghiên cứu của Võ Mai Như Hiếu [57]	0,089 - 0,44%	-	-
Sử dụng công nghệ tích hợp	0,1704 – 0,182%	2,78 – 2,83%	28,7 – 32,2%

Do hàm lượng, thành phần các hợp chất Phenolic, Fucoidan, Alginate ở rong có sự biến động theo loài, theo mùa... nên chưa thể đánh giá và so sánh chính xác về hiệu quả chiết xuất theo các phương pháp khác nhau. Tuy nhiên, kết quả ứng dụng tích hợp các kỹ thuật tiên tiến cho hiệu suất chiết ở mức tương đối cao, đồng thời giúp chiết toàn bộ các hợp chất hữu ích trong nguyên liệu và tận dụng bã thải làm phân bón, đem lại lợi ích về kinh tế và bảo vệ môi trường.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết quả khảo sát, đánh giá các mẫu rong Nâu thu thập tại vùng biển Việt Nam cho thấy: **(i)** Chi rong Mơ (*Sargassum*) 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 Mơ có hàm lượng lipid tổng từ 0,07 tới 2,11%; đều có mặt các axit béo no, không no một nối đôi và đặc biệt là các axit béo không no đa nối đôi (PUFA).

2. Kết quả sàng lọc ảo *in silico docking* cho thấy hợp chất difucodiphloretol-A được phân lập từ chi rong Mơ có tiềm năng trong phát triển thuốc ức chế enzyme tyrosinase để phát triển sản phẩm làm trắng da.

3. Kết quả nghiên cứu, đánh giá việc tích hợp các kỹ thuật tiên tiến (enzyme, siêu âm, vi sóng, ly tâm tốc độ cao...) để xây quy trình công nghệ chiết xuất và chế biến toàn diện rong Mơ đem lại khả năng thu hồi đồng bộ, hiệu suất cao đối với các sản phẩm như phenolic, fucoidan, alginate từ nguồn nguyên liệu rong Nâu dồi dào, có sẵn trong tự nhiên; đồng thời, bã thải được nghiên cứu sử dụng làm phân hữu cơ vi lượng, giúp hạn chế tối đa chất thải, góp phần bảo vệ môi trường và nâng cao giá trị sử dụng của rong Nâu.

4. Kết quả nghiên cứu, xây dựng quy trình công nghệ chiết xuất phenolic từ loài *swartzii* thuộc chi rong Mơ (*Sargassum*), ngành rong Nâu theo phương pháp vi sóng và tối ưu hóa điều kiện chiết xuất phenolic bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) cho thấy: Ở nồng độ etanol 55%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu = 35/1 (v/w); thời gian chiết 65 phút và công suất lò vi sóng là 475W thì hàm lượng phlorotannin thu được 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 giá trị tối ưu được dự đoán, phù hợp với những phân tích từ phần mềm Design expert 7.0. Kết quả thử hoạt tính chống oxi hóa và gây độc tế bào *in vitro* của phenolic thu được ở mức trung bình.

5. Đã nghiên cứu quá trình tích hợp một số công nghệ tiên tiến để thu nhận alginate và sản xuất chế phẩm Canxi alginate ở quy mô mini pilot; đã tiến hành đánh giá hoạt tính chống loãng xương, độ an toàn và hiệu lực của

chế phẩm Canxi alginate. Kết quả cho thấy: **(i)** Chế phẩm không ghi nhận gây độc tính ở liều kiểm định; **(ii)** Ở nồng độ 20 $\mu\text{g/ml}$ và 4 $\mu\text{g/ml}$, chế phẩm Canxi alginate thể hiện có khả năng tăng cường hoạt động của enzyme ALP, tăng cường tổng hợp collagen và kích thích tạo khoáng ở mức độ có ý nghĩa thống kê so với đối chứng âm; **(iii)** Chế phẩm alginate ghi nhận có tác dụng đào thải các kim loại nặng ở chuột khi sử dụng bắt đầu từ liều thử 0,1g/kg thể trọng của chuột.

Kiến nghị:

- Tiếp tục nghiên cứu, định hướng tạo thêm một số sản phẩm giá trị khác từ rong Nâu (chiết xuất hợp chất phlorotanin ứng dụng trong mỹ phẩm, chiết xuất khoáng vi lượng, vitamin, lipid... ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng...).

- Tạo chế phẩm hoàn thiện từ canxi alginate để giải độc kim loại.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Đã khảo sát, đánh giá nguyên liệu rong Nâu thu nhận từ các vùng biển Việt Nam, lựa chọn được đối tượng rong phù hợp để chiết xuất tối đa hàm lượng alginate và sản xuất chế phẩm Canxi alginate. Tiến hành đánh giá hoạt tính chống loãng xương, độ an toàn, tác dụng đào thải các kim loại nặng của Canxi alginate.

- Lần đầu tiên tiến hành sàng lọc ảo (*in silico docking*) đối với các hợp chất phenolic từ rong Nâu để đánh giá tiềm năng ức chế enzyme Tyrosinase, qua đó định hướng cho nghiên cứu tiếp theo về thực nghiệm sản xuất chế phẩm làm trắng da.

- Lần đầu tiên tối ưu hóa bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) đối với quy trình chiết xuất phenolic từ rong Nâu theo phương pháp hỗ trợ vi sóng.

- Lần đầu tiên sử dụng tích hợp các kỹ thuật tiên tiến (chiết siêu âm, chiết vi sóng, chiết enzyme...) để chiết xuất toàn diện các sản phẩm có giá trị từ đối tượng rong Nâu.