

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Lê Thái Quang

**KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SẢN PHẨM TỔ YẾN
THỦY PHẦN BỞI MỘT SỐ DỊCH CHIẾT THỰC VẬT**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC THỰC NGHIỆM

LÊ THÁI QUANG

SINH HỌC THỰC NGHIỆM

2024

Thành phố Hồ Chí Minh - 2024

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Lê Thái Quang

**KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SẢN PHẨM TỔ YẾN
THỦY PHÂN BỞI MỘT SỐ DỊCH CHIẾT THỰC VẬT**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC THỰC NGHIỆM

Mã số: 8420114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Nguyễn Thị Khoa *Khoa*
2. TS. Nguyễn Hoàng Dũng *Dũng*

Thành phố Hồ Chí Minh - 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. Nguyễn Thị Khoa và TS. Nguyễn Hoàng Dũng. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm.

Tác giả luận văn



Lê Thái Quang

LỜI CẢM ƠN

Trong hành trình cuộc đời của mỗi người, không có bất kỳ ai tự nhiên hiểu biết tất cả mọi thứ mà chúng ta không ngừng quan sát và học hỏi từ xung quanh và từ những di sản tri thức được truyền lại qua các thế hệ. Những bài học kinh nghiệm và kiến thức quý báu mà các thầy/cô giáo truyền lại cho những học trò của mình là tiền đề, là phương tiện để các thế hệ tiếp nối xây dựng những con đường tương lai cho bản thân họ, cho cộng đồng và xã hội. Bất kỳ con đường dẫn đến thành công nào cũng đều được xây nên từ những viên gạch cần cù, sáng tạo,... và những viên gạch tri thức của những người đi trước truyền lại. Với tất cả lòng chân thành, em xin được bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc nhất đến cô TS. Nguyễn Thị Khoa và thầy TS. Nguyễn Hoàng Dũng đã tận tình chỉ dạy, giúp đỡ, tạo mọi điều kiện thuận lợi và động viên em trong suốt quá trình làm luận văn.

Em cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành đến chị Nguyễn Thị Phương cùng các anh, chị công tác tại Viện Kỹ thuật công nghệ cao NTT thuộc trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã nhiệt tình giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình em thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ, Phòng Đào tạo và Khoa Công nghệ sinh học của Học viện Khoa học và Công nghệ-Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam cùng quý thầy cô đã giảng dạy và tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp tôi hoàn thành luận văn.

Sau cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến gia đình, người thân và bạn bè đã bên tôi, quan tâm và động viên tôi trong cuộc sống và trong quá trình học tập nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn!



Lê Thái Quang

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC BẢNG.....	x
DANH MỤC HÌNH	xi
MỞ ĐẦU	1
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	3
1.1. GIỚI THIỆU VỀ CHIM YẾN HANG.....	3
1.2. TỔNG QUAN VỀ TỔ YẾN.....	5
1.2.1. Giới thiệu tổ yến	5
1.2.2. Thành phần dinh dưỡng.....	7
1.2.3. Tác dụng dược lý của tổ yến.....	9
1.2.4. Các phương pháp xử lý tổ yến	11
1.2.5. Sự thủy phân tổ yến	12
1.3. PROTEASE THỰC VẬT	16
1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG ENZYME TRÊN THẾ GIỚI VÀ Ở VIỆT NAM	17
1.4.1. Trên thế giới	17
1.4.2. Ở Việt Nam	18
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	19
2.1. VẬT LIỆU.....	19
2.1.1. Nguyên vật liệu	19
2.1.2. Hoá chất và thiết bị	19
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.2.1. Phương pháp Anson sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteau để xác định hoạt tính protease tổng của dịch chiết thực vật.....	21

2.2.3. Phương pháp 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) đánh giá khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến sau khi được thủy phân bằng dịch chiết thực vật.....	23
2.2.4. Phương pháp ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase đánh giá khả năng ức chế enzyme của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết thực vật	24
2.2.5. Phương pháp kiểm tra hoạt tính làm lành vết thương <i>in vitro</i> của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng các dịch chiết thực vật.....	25
2.2.6. Phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS) để kiểm tra hàm lượng acid sialic tự do trong các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng các dịch chiết thực vật	26
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	28
3.1. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH PROTEASE TỔNG CỦA DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, DỊCH CHIẾT GỪNG VÀ DỊCH CHIẾT MĂNG	28
3.2. KẾT QUẢ KHẢO SÁT KHẢ NĂNG THỦY PHÂN TỔ YẾN CỦA DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở CÁC ĐIỀU KIỆN KHÁC NHAU VỀ NỒNG ĐỘ DỊCH CHIẾT, NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN THỦY PHÂN.....	30
3.2.1. Kết quả khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ.....	30
3.2.2. Kết quả khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng.....	33
3.2.3. Kết quả khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây..	35
3.3. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HOÁ CỦA CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP.....	38
3.4. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG ỨC CHẾ ENZYME TYROSINASE CỦA CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP	42
3.5. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG LÀM LÀNH VẾT THƯƠNG <i>IN VITRO</i> CỦA CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP	46
3.6. KẾT QUẢ KIỂM TRA HÀM LƯỢNG ACID SIALIC TỰ DO TRONG CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP.....	52

Chương 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	54
4.1. KẾT LUẬN	54
4.2. KIẾN NGHỊ	55
TÀI LIỆU THAM KHẢO	56
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu/ Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)	
Ala	Alanine	
APS	Ammonium persulfate	
Arg	Arginine	
Asn	Asparagine	
Asp	Aspartic acid	
Cys	Cysteine	
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	
DTT	Dichloro-diphenyl-trichloroethane	
EBN	Edible bird's nest	Tổ yến có thể ăn được
EC50	Half maximal effective concentration	Nồng độ hiệu quả tối đa một nửa
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	
ESI	ElectroSpray Ionization	Kỹ thuật ion hóa tia điện
FBS	Fetal Bovine Serum	Huyết thanh thai bò
FRAP	Ferric reducing-antioxidant power	Phương pháp đo khả năng chống oxy hóa khử sắt
Fuc	Fucose	
Gal	Galactose	
GalN	Galactosamine	
GlcN	Glucosamine	
Gln	Glutamine	

Glu	Glutamic acid	
Gly	Glycine	
His	Histidine	
Hyp	Hydroxyproline	
IgE	Immunoglobulin E	Globulin miễn dịch E
Ile	Isoleucine	
KDN	Deamination Neuraminic Acid (2-keto-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nononic acid)	
LC-ESI-TOF MS	Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry	Sắc ký lỏng khối phổ ion hóa tia điện cực thời gian bay
LC-MS	Liquid chromatography – mass spectrometry	Sắc ký lỏng – Khối phổ
LC-MS/MS	Liquid Chromatography – tandem mass spectrometry	Sắc ký lỏng – Khối phổ hai lần
Leu	Leucine	
Lys	Lysine	
m/z	Mass to charge ratio	Khối lượng/Điện tích
Man	Mannose	
MCDK	Madin-Darby Canine Kidney	Tế bào thận chó Madin-Darby
Met	Methionine	
Neu	Neuraminic acid (5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulosonic acid)	
Neu5Ac/ NANA	N-Acetylneuraminic acid (5-(Acetylamino)-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosonic acid)	

Neu5Gc	N-Glycolylneuraminic acid (3,5-Dideoxy-5- ((Hydroxyacetyl)amino)-D-glycero- D-galacto-2-nonulosonic acid)	
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity	Khả năng hấp thụ gốc tự do
PBS	Phosphate Buffered Saline	Dung dịch đệm phosphate
Phe	Phenylalanine	
Pro	Proline	
ROS	Reactive Oxygen Species	Phân tử oxy hoạt tính
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao ngược pha
SA	Sialic acid	
Sar	Sarcosine	
SDS	Sodium dodecyl sulfate	
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate– polyacrylamide gel electrophoresis	Kỹ thuật điện di đứng trên gel poly-acrylamide
Ser	Serine	
TCA	Trichloroacetate	
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethane	
TEMED	N,N,N',N'-tetramethylethane-1,2- diamine	
Thr	Threonine	
Trp	Tryptophan	
Tyr	Tyrosine	
USDA	United States Department Of Agriculture	Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ
Val	Valine	
v/v	Volume/Volume	Thể tích/Thể tích
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế thế giới

w/v	Weigh/Volume	Khối lượng/Thể tích
-----	--------------	---------------------

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Phân loại tổ yến.....	06
Bảng 1.2. Bảng tóm tắt một số tác dụng dược lý của tổ yến đã được công bố	10
Bảng 1.3. Bảng tóm tắt một số hoạt tính sinh học của tổ yến được tăng cường sau khi bị thủy phân bằng enzyme	13
Bảng 3.1. Hoạt tính protease tổng của dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây theo phương pháp Anson.....	28
Bảng 3.2. Hiệu quả kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ	39
Bảng 3.3. Hiệu quả kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng	40
Bảng 3.4. Hiệu quả kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây.....	40
Bảng 3.5. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ	43
Bảng 3.6. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng.....	44
Bảng 3.7. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây.....	44
Bảng 3.8. Tỷ lệ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5%	47
Bảng 3.9. Tỷ lệ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân dịch chiết gừng nồng độ 2,5%	49
Bảng 3.10. Tỷ lệ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân dịch chiết măng tây nồng độ 2,5%	50
Bảng 3.11. Hàm lượng NANA tự do có trong các mẫu tổ yến trước và sau 4 giờ thủy phân bởi dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây.....	53

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Chim yến tổ trắng <i>Aerodramus fuciphagus</i>	03
Hình 1.2. Chim yến xây tổ tự nhiên trên vách hang động.....	04
Hình 1.3. Mô hình nhà nuôi chim yến	05
Hình 1.4. Tổ yến có hàm lượng nitrite càng cao thì màu sắc tổ càng chuyển sang đỏ	06
Hình 1.5. Phân tử glycoprotein được hình thành nhờ sự liên kết các chuỗi đường lên phân tử protein	13
Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát của đề tài	21
Hình 3.1. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ ở các điều kiện nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian xử lý khác nhau. Tổ yến được xử lý với dịch chiết đu đủ ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% (khối lượng/thể tích) tại nhiệt độ 25°C (A), 37°C (B) và 60°C (C) trong thời gian 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ	32
Hình 3.2. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng ở các điều kiện nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian xử lý khác nhau. Tổ yến được xử lý với dịch chiết gừng ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% (khối lượng/thể tích) tại nhiệt độ 25°C (A), 37°C (B) và 60°C (C) trong thời gian 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ.....	34
Hình 3.3. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây ở các điều kiện nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian xử lý khác nhau. Tổ yến được xử lý với dịch chiết măng tây ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% (khối lượng/thể tích) tại nhiệt độ 25°C (A), 37°C (B) và 60°C (C) trong thời gian 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ.....	36
Hình 3.4. Hình ảnh thể hiện hiệu quả làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến, dịch chiết đu đủ và sản phẩm thủy phân tổ yến bằng dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5%	47
Hình 3.5. Hình ảnh thể hiện hiệu quả làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến, dịch chiết gừng và sản phẩm thủy phân tổ yến bằng dịch chiết gừng nồng độ 2,5%.....	48
Hình 3.6. Hình ảnh thể hiện hiệu quả làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến, dịch chiết măng tây và sản phẩm thủy phân tổ yến bằng dịch chiết măng tây nồng độ 2,5%.....	50

MỞ ĐẦU

Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), chế độ ăn uống và lối sống không lành mạnh cùng với một số yếu tố môi trường là những nguyên nhân dẫn đến sự gia tăng mạnh các bệnh không truyền nhiễm (non-communicable disease) như bệnh tiểu đường loại 2, huyết áp cao, đột quỵ và bệnh tim mạch. Bên cạnh đó, tác động xấu của biến đổi khí hậu và ô nhiễm môi trường cùng với sự tăng nhanh dân số thế giới không ngừng gây áp lực lên hệ thống lương thực toàn cầu và sức khoẻ của con người. Do đó, việc lựa chọn sử dụng các loại thực phẩm chất lượng cao, có lợi cho sức khoẻ là tiền đề cần thiết để ngăn ngừa bệnh tật và đảm bảo một cuộc sống khoẻ mạnh. Tổ yến từ lâu đã được biết đến là một loại thực phẩm giàu dinh dưỡng và mang lại nhiều lợi ích ẩn tượng cho sức khoẻ. Thành phần chủ đạo trong tổ yến là glycoprotein cùng với một lượng acid sialic đáng kể đã tạo nên các giá trị dược tính đặc trưng của tổ yến. Tổ yến được cho là có thể điều trị một số bệnh liên quan đến hô hấp và tiêu hóa. Tổ yến cũng có lợi đối với bệnh nhân ung thư.

Phương pháp chưng tổ yến truyền thống không giúp tổ yến tan hoàn toàn, phần lớn protein tổ yến sau khi chưng vẫn có khối lượng phân tử rất lớn và cấu trúc không gian phức tạp. Điều này có thể gây ra tình trạng khó tiêu, khó hấp thu ở những người có hệ tiêu hoá kém như người bệnh, người già và trẻ em. Do đó, các giá trị dinh dưỡng và dược lý của tổ yến không được tận dụng hết. Việc sử dụng enzyme thủy phân (protease) sẽ giúp phân cắt protein tổ yến có kích thước lớn thành các phân tử có kích thước nhỏ hơn và giải phóng các peptide hoạt tính. Vì vậy, một số hoạt tính sinh học của tổ yến sau khi bị thủy phân có thể được tăng cường như khả năng kháng oxy hoá, chống lão hoá, làm trắng da, thúc đẩy tế bào tăng sinh, thúc đẩy tế bào xương biệt hoá, hạ huyết áp và chống virus cúm.

Các nghiên cứu trước đây đã sử dụng protease tinh chế có nguồn gốc từ vi khuẩn, nấm, động vật và thực vật để thủy phân tổ yến. Trong khi đó, khả năng thủy phân tổ yến bằng hệ protease sẵn có trong dịch chiết thực vật cũng như sự tăng cường hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân vẫn chưa được đánh giá kỹ lưỡng. Là một đất nước nhiệt đới, Việt Nam sở hữu đa dạng các loại nông sản. Nhận biết được những ưu thế về nguồn nguyên liệu và tiềm năng ứng dụng của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết thực vật, chúng tôi đề xuất đề tài: “**Khảo sát hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi một số dịch chiết thực vật**”. Mục tiêu của đề tài là khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây, đồng thời đánh giá khả năng kháng oxy hoá, khả năng ức chế

enzyme tyrosinase, khả năng làm lành vết thương cũng như hàm lượng acid sialic tự do trong sản phẩm tổ yến sau thủy phân.

Đề tài giúp xác định điều kiện thủy phân tổ yến bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây phù hợp để tạo sản phẩm thủy phân có hoạt tính sinh học mong muốn được nâng cao. Ngoài ra, kết quả thu được trong đề tài có thể trở thành nền tảng cho những nghiên cứu ứng dụng sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây để tạo ra đồ uống hay thực phẩm chức năng có hoạt tính sinh học tăng cường. Quy trình nghiên cứu của đề tài cũng có thể được dùng để mở rộng phạm vi đánh giá khả năng thủy phân tổ yến bằng những đối tượng thực vật tiềm năng khác.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. GIỚI THIỆU VỀ CHIM YẾN HANG

Chim yến hang (swiftlets) là tên gọi cho nhóm chim thuộc tông *Collocaliini*, họ *Apodidae* (yến), có cơ thể nhỏ và nhẹ với đầu cánh dài và chân ngắn. Khi đôi cánh của chúng gấp lại, đầu cánh nằm ở vị trí dài hơn chóp đuôi. Ngón chân ngắn và cong cùng với cơ bắp chân mỏng không thể giúp chúng chống đỡ tốt trọng lượng cơ thể, vì vậy khả năng đi đứng của chúng rất kém, giống như ý nghĩa của họ *Apodidae* - “không có chân” trong tiếng Hy Lạp [1]. Chim yến hang có khả năng bay rất nhanh nhẹn và dẻo dai, và chúng dành phần lớn thời gian để bay. Chiếc mỏ ngắn của chúng với khoảng trống rộng và khả năng định vị bằng tiếng vang giúp đảm bảo cho việc săn bắt côn trùng trên không trung [2].



Hình 1.1. Chim yến tổ trắng *Aerodramus fuciphagus* [3].

Tông *Collocaliini* bao gồm 36 loài, chúng được chia thành bốn chi với tên gọi là *Aerodramus*, *Hydrochous*, *Schoutedenapus* và *Collocalia*. Chỉ có bảy loài yến hang thuộc chi *Aerodramus* và *Collocalia* tạo ra tổ yến có thể ăn được. Chúng là *C. esculenta* và *C. linchi* của chi *Collocalia*; *A. fuciphagus*, *A. germani*, *A. maximus*, *A. unicolor* và *A. francicus* của họ *Aerodramus* [4]. Hiện nay, việc phân loại các loài chim thuộc họ yến nói chung và yến hang nói riêng dựa trên cơ sở các đặc điểm hình thái, hành vi, di truyền và các thông tin khác vẫn chưa có kết quả nhất quán nào được đồng thuận [1]. Nguyên nhân là do những loài chim yến hang này có sự tương đồng cao về hình thái học. Chúng đã từng bị sắp xếp trong một, hai hoặc ba chi khác nhau vài lần dựa vào các tiêu chí như đặc điểm hình thái bên ngoài hay đặc tính xây tổ [5]. Theo quan sát và phân tích của các nhà khoa học, sự sinh trưởng và

sinh sản của chim yến cần điều kiện môi trường thích hợp với độ ẩm khoảng 90%, nhiệt độ 28 - 30°C và có đầy đủ nguồn thức ăn [6]. Vì vậy, chim yến chỉ phân bố ở những nơi có điều kiện sống thích hợp như Indonesia, Malaysia, Thái Lan, Việt Nam, Philippines, Myanmar, Campuchia, Trung Quốc [7].



Hình 1.2. Chim yến xây tổ tự nhiên trên vách hang động [8].

Chim yến chỉ sinh sản một lần vào mùa khô do thiếu thức ăn. Khi mùa mưa đến và nguồn thức ăn trở nên dồi dào hơn, chúng sẽ bước vào thời kỳ sinh sản chính với tần suất gấp đôi. Trước mỗi lần đẻ trứng, các cặp chim yến sẽ xây một tổ mới. Do đó, việc lấy đi những tổ yến đã qua sử dụng không những không gây hại mà còn tạo cho chúng môi trường làm tổ bền vững. Tuy nhiên, tổ yến chỉ nên được thu hoạch sau khi chim non rời đi. Một số người nuôi tham lam lợi dụng thói quen này và lấy đi những tổ mới xây, buộc chim phải xây tổ lại trong thời gian ngắn. Hành vi thu hoạch tổ yến không kiểm soát này gây ảnh hưởng xấu đến chất lượng tổ yến, hơn nữa nó còn gây hại cho sức khỏe của chim yến và cản trở sự phát triển bền vững của ngành công nghiệp tổ yến. Để bảo vệ môi trường sinh thái, một số quốc gia đã hạn chế việc thu hoạch tổ yến hang - được tạo ra ở trong hang động, nhưng không có quy định nào về việc thu hoạch tổ yến nhà - được tạo ra trong các công trình nhân tạo [7].



Hình 1.3. Mô hình nhà nuôi chim yến [9].

1.2. TỔNG QUAN VỀ TỔ YẾN

1.2.1. Giới thiệu tổ yến

Tổ chim yến được hình thành từ nước dãi chim yến trộn với lông hoặc cỏ để làm nơi đẻ trứng và nuôi chim non. Tổ của chim yến có thể ăn được (edible bird's nest – EBN) thu nhận từ 7 loài của họ *Aerodramus* và *Collocalia* (*Apodidae*) có giá trị dinh dưỡng và hoạt tính sinh học rất cao như hoạt tính chống lão hoá, chống oxy hoá và tăng cường miễn dịch [7]. Những đặc tính quý khiến cho tổ yến có giá thành cao và thu hút rất nhiều sự quan tâm của người tiêu dùng. Vì vậy, tổ yến là đối tượng hấp dẫn để giới khoa học nghiên cứu chuyên sâu về thành phần cấu tạo, hoạt tính sinh học, kiểm soát chất lượng, phân biệt tổ yến thật giả và nhiều hướng nghiên cứu khác [7].

Tổ yến chủ yếu được sản xuất ở khu vực Đông Nam Á có mùi vị ngon và giá trị dinh dưỡng cao. Tổ yến đã được xem là thực phẩm cao cấp cho sức khỏe và là biểu tượng cho địa vị của giới quý tộc từ thời nhà Đường [4] [10]. Theo những nghiên cứu được ghi chép trong sử sách, tác dụng chữa bệnh của tổ yến lần đầu tiên được đề cập đến trong tài liệu bản thảo cương mục (Essential of Materia Medica) của Ang Wang thời nhà Thanh. Hiệu quả của tổ yến được ghi chép rõ ràng hơn trong phụ lục bản thảo cương mục (A Supplement to Compendium of Materia Medica) của Xuemin Zhao [4]. Y học cổ truyền Trung Quốc cho rằng tổ yến có tính trung, vị ngọt, tác dụng thông kinh lạc phổi, dạ dày và thận; và có đặc tính làm ẩm phổi, tan đờm, giải ho [7].



Hình 1.4. Tổ yến có hàm lượng nitrite càng cao thì màu sắc tổ càng chuyển sang đỏ [11] [12] [13].

Tổ yến hoàn chỉnh có dạng một nửa cái bát, màu trong mờ, có hương thơm đặc trưng với mùi cá nhẹ. Nhìn chung, tổ yến được phân loại dựa trên nhiều tiêu chuẩn, cụ thể được thể hiện trong Bảng 1 [7].

Bảng 1.1. Phân loại tổ yến [7].

Tiêu chuẩn phân loại	Phân loại tổ yến	Mô tả
Nơi xây tổ	Hang động	Thu hoạch từ trong hang
	Nhà nuôi yến	Thu hoạch từ nhà yến
Màu sắc	Trắng	Màu của tổ yến là trắng
	Vàng	Màu của tổ yến là vàng
	Đỏ	Màu của tổ yến là đỏ
	Đỏ ở góc	Tổ yến chỉ có màu đỏ ở 2 góc
Chất lượng	Tổ yến thượng hạng	Phần lớn thành phần trong tổ đều ăn được
	Tổ yến lông	Phần lớn thành phần trong tổ là lông
	Tổ yến cỏ	Phần lớn thành phần trong tổ là cỏ
Hình dạng	Hình bát	Hình dạng hoàn chỉnh của tổ như là một nửa cái bát; tổ được xây ở mép tường phía trên
	Hình tam giác	Tổ có hình tam giác và được xây ở góc giữa trần và trên tường
	Mô hình	Được tạo hình bằng những khuôn mẫu có sẵn cho ra những hình dạng khác nhau

	Dạng thanh dài	Tổ yến hoàn chỉnh bị ép trong quá trình vận chuyển và chế biến, do đó không thể duy trì hình dạng nửa cái bát và trở thành thanh dài
	Có nhiều góc	Các góc của tổ là nơi chịu lực
	Mảnh vỡ	Những mảnh vụn của tổ bị nghiền nát, gồm tất cả các phần của tổ
Độ đặc	Đặc	Các sợi của tổ phân bố rất đồng đều và các khoảng trống không rõ ràng
	Thưa	Các sợi của tổ phân bố không đều và cấu trúc tổ có nhiều khoảng trống
Cách thức loại bỏ tạp chất	Khô	Loại bỏ tạp chất không cần nước
	Bán khô	Loại bỏ tạp chất của tổ sau khi được phun sương bằng nước
	Ướt	Loại bỏ tạp chất sau khi được ngâm trong nước

1.2.2. Thành phần dinh dưỡng

Để hiểu rõ hoạt tính sinh học của tổ yến như một loại thuốc hoặc thực phẩm chức năng, các nghiên cứu về thành phần của tổ yến có vai trò rất quan trọng. Thành phần chính của tổ yến theo thứ tự hàm lượng từ cao đến thấp là protein, đường, tro, chất béo.

Hàm lượng chất béo chỉ khoảng 0,14–1,28% chứng tỏ tổ yến là thực phẩm ít béo [14]. Chất béo trung tính của tổ yến giàu acid béo không bão hòa đa (48,43%), chiếm ưu thế là acid linoleic với tỉ lệ 47,15%. Tiếp đó là acid béo bão hòa (25,35%) với đại diện acid palmitic chiếm tỉ lệ 21,33%. Chất béo không bão hòa đơn chiếm tỉ lệ thấp hơn (24,74%), trong đó acid oleic chiếm ưu thế với 21,97% [15].

Hàm lượng tro khoáng của tổ yến sạch chiếm khoảng 5%, trong khi của tổ yến còn lông cao hơn một chút. Sự chênh lệch hàm lượng tro khoáng giữa các tổ yến với độ sạch khác nhau là do sự hiện diện của lông và các tạp chất khác. Sau khi phân tích 18 loại nguyên tố khoáng trong tổ yến, các nhà khoa học nhận thấy sự hiện diện của các nguyên tố đa lượng, vi lượng thiết yếu và kim loại nặng. Hàm lượng Na, Mg, K và Ca nói chung cao [16] [17]. Nhưng hàm lượng của các nguyên tố vi lượng thiết yếu như Fe, Cu và các kim loại nặng như Hg và As đa dạng trong

từng mẫu, điều này có thể liên quan đến môi trường kiếm ăn và môi trường làm tổ của chim yến [18] [19].

Đường là thành phần có hàm lượng nhiều thứ 2 trong tổ yến chỉ sau protein, với tỉ lệ khoảng 25,62–31,40% khối lượng khô [14]. Đường trong tổ yến bao gồm acid sialic (SA), mannose (Man), glucosamine (GlcN), galactosamine (GalN), galactose (Gal) và fucose (Fuc) [16]. Acid sialic là thành phần nổi bật nhất trong tổ yến, với hàm lượng khoảng 10%. Acid sialic còn được biết đến là “acid tổ yến” vì nó có hàm lượng cao nhất trong tổ yến so với các sản phẩm tự nhiên khác. Acid sialic là dẫn xuất acyl hóa của đường đơn (monosaccharide) được carboxyl hóa có chứa 9 nguyên tử carbon, thường tồn tại ở dạng oligosaccharide, glycolipid hoặc glycoprotein. Theo các nhóm liên kết khác nhau trên carbon số 5, acid sialic có thể được chia thành bốn nhóm: N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac hoặc NANA), N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc), neuraminic acid bị khử amin (deamination neuraminic acid, KDN) và neuraminic acid (Neu). Hai dạng đầu tiên là dạng chính của acid sialic và acid sialic trong tổ yến tồn tại ở dạng NANA [20]. Đối với con người, acid sialic trong tổ yến có thể tham gia vào các ganglioside, thành phần quan trọng trên màng tế bào não. Do đó, acid sialic thường liên quan đến sự phát triển hệ thần kinh và não bộ ở trẻ sơ sinh. Acid sialic cũng tham gia vào thành phần chất nhầy bên ngoài giúp các tế bào tránh vi khuẩn gây hại [21] [22].

Với hàm lượng 60–66%, protein là thành phần chiếm tỉ lệ cao nhất trong tổ yến, nhưng tổ yến có thể không phải là nguồn cung cấp protein chất lượng cao [14]. Trong thí nghiệm đánh giá thành phần và đặc điểm protein, tổ yến không thể cải thiện tình trạng suy dinh dưỡng của chuột do tiêu thụ protein hạn chế, trong khi một lượng nhỏ whey protein hoặc bột hạt lanh có thể cải thiện tình trạng suy dinh dưỡng trên. Bên cạnh đó, tốc độ tiêu hóa protein tổ yến không nhanh bằng so với protein của thịt gà luộc [23]. Peptide là một trong những thành phần quan trọng nhất trong tổ yến. Các phương pháp tách chiết khác nhau sẽ ảnh hưởng đến các loại peptide khác nhau và hoạt tính sinh học của chúng [24]. Mặt khác, các nghiên cứu về amino acid cho thấy mặc dù số lượng các loại amino acid trong tổ yến giống nhau nhưng tỉ lệ của chúng lại khác nhau [25] [26] [27] [28] [29].

Một nghiên cứu gần đây đã phân tích 22 loại amino acid trong 10 loại tổ yến. Tổng cộng có 20 loại được phát hiện, bao gồm 8 amino acid thiết yếu [30]. Hydroxyproline (Hyp) và sarcosine (Sar) không được tìm thấy trong tổ yến, điều này cho thấy tổ yến không có collagen. Các amino acid có trong tổ yến bao gồm aspartic acid (Asp), glutamic acid (Glu), serine (Ser), histidine (His), glycine (Gly),

threonine (Thr), arginine (Arg), alanine (Ala), tyrosine (Tyr), cysteine (Cys), valine (Val), methionine (Met), phenylalanine (Phe), isoleucine (Ile), leucine (Leu), lysine (Lys), proline (Pro), asparagine (Asn), glutamine (Gln) và tryptophan (Trp). Đáng chú ý là Trp, Cys, Asn và Gln không được phát hiện trong một số nghiên cứu, điều này có thể là do Trp và Cys bị thủy phân hoàn toàn trong quá trình thủy phân acid, trong khi Asn và Gln bị khử amin hóa thành acid aspartic và glutamine. Tổng số amino acid thiết yếu được tìm thấy trong các mẫu tổ yến (17,8 g/100 g) cao hơn đáng kể so với trong các thực phẩm giàu protein khác như trứng (4,7–7,0 g/100 g) và sữa (1,1 g/100 g), điều này có nghĩa tổ yến là một nguồn cung cấp amino acid thiết yếu tiềm năng [17]. Tổ yến cũng chứa nước và hàm lượng nước của tổ yến ở các vùng khác nhau không có sự khác biệt rõ ràng. Tuy nhiên để bảo vệ tính toàn vẹn cấu trúc tổ, hàm lượng nước của tổ yến trong quá trình vận tải thường được điều chỉnh cao hơn tổ yến thương mại [25]. Hàm lượng nước cao có lợi cho sự phát triển của vi khuẩn và không tốt cho việc bảo quản, trong khi hàm lượng nước thấp làm cho tổ yến khô và dễ vỡ, gây bất tiện cho việc vận chuyển. Theo tiêu chuẩn của Malaysia, Indonesia và Thái Lan, hàm lượng nước của tổ yến thương mại nên được kiểm soát dưới 15% [31].

Bên cạnh những thành phần thiết yếu quan trọng, tổ yến còn chứa một số chất gây dị ứng cho người tiêu dùng. Một thử nghiệm lâm sàng do Đại học Quốc gia Singapore (National University of Singapore) thực hiện cho thấy sự hiện diện của chất trung gian IgE trong tổ yến, gây ra tình trạng phản vệ ở trẻ em [32]. Chất gây dị ứng này là một loại protein có khối lượng phân tử 66 kD, cũng được tìm thấy trong trứng. Khả năng gây mẫn cảm của tổ yến được ghi nhận từ các khu vực khác nhau thì cũng khác nhau. Tổ yến cũng chứa lượng vết các hormone, bao gồm testosterone, estradiol, progesterone, hormone tạo hoàng thể (hormone gây lutein hoá – luteinizing hormone), hormone kích thích nang trứng và prolactin [4].

1.2.3. Tác dụng dược lý của tổ yến

Mặc dù tổ yến có giá dinh dưỡng cao và cung cấp lượng lớn các nguyên tố quan trọng nhiều hơn so với các loại thực phẩm tự nhiên khác, nhưng yếu tố xác định độ “quý” của tổ yến không chỉ là dinh dưỡng. Các hoạt tính sinh học ấn tượng do tổ yến mang lại cũng giúp nâng tầm giá trị của tổ yến. Y học cổ truyền Trung Quốc tin rằng tổ yến có chức năng nhuận phổi, dưỡng dạ dày, bổ gan, sáng mắt và bổ tim. Ăn tổ yến là một loại hình văn hóa sức khỏe ở Trung Quốc và được ghi lại trong các đơn thuốc, chế độ ăn uống và kinh nghiệm dân gian trong sách y học của các triều đại trước đây. Những nghiên cứu y học hiện đại thường tập trung vào

ngiên cứu thành phần, xác định tính xác thực, xác định thành phần, nghiên cứu tác dụng dược lý và nghiên cứu truy xuất nguồn gốc. Trong những năm gần đây, số lượng các công trình nghiên cứu về dược tính và cơ chế của tổ yến đã tăng lên đáng kể; chủ yếu tập trung vào tác dụng kháng virus, điều hòa miễn dịch, cải thiện khả năng học tập và tăng cường trí nhớ, cải thiện bệnh thoái hóa thần kinh và tác dụng chống oxy hóa. Các nghiên cứu về cơ chế cho thấy hoạt tính sinh học của tổ yến chủ yếu là do sự hiện diện của SA. Ngoài ra, nhiều đánh giá đã giải thích rõ quy trình và hoạt tính sinh học của SA, bao gồm cả việc chuẩn bị, tách, tinh chế, phương pháp phát hiện, hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của nó [20] [33] [34].

Bảng 1.2. Bảng tóm tắt một số tác dụng dược lý của tổ yến đã được công bố [7].

Tác dụng dược lý	Tác giả
Chống virus cúm và ức chế đông máu	Guo (2006 và 2017) [35] [36]; Haghani (2016) [37]; Von Itzstein (1993) [38]
Điều hoà miễn dịch	Hou (2010) [39]; Zhang (1994) [40]; Zhao (2016) [41]; Cao (2012) [42]
Tăng cường trí tuệ và trí nhớ	Xie (2018) [43]
Khả năng cải thiện các bệnh thoái hoá thần kinh	Careena (2018) [44]; Yew (2018 và 2019) [45] [46] [47]; Hou (2015 và 2017) [48] [49]
Thúc đẩy tăng sinh tế bào	Zainal Abidin (2011) [50]; Roh (2011) [51]; Albishtue (2019) [52]
Khả năng kháng oxy hoá, kháng viêm và chống lão hoá	Kim (2012) [53]; Ghassem (2017) [54]; Zhang (1994) [40]; Lee (2019) [15]; Albishtue (2018 và 2019) [55] [56]; Vimala (2012) [57]; Zhang (2015) [58]
Cải thiện sức khoẻ xương	Matsukwa (2011) [59]; Chua (2013) [60]
Cải thiện các bệnh tim mạch	Lee (2019) [15]; Ramachandran (2018) [61]; Zhang (2015) [58] [62]; Hou (2015) [63]

1.2.4. Các phương pháp xử lý tổ yến

Trước khi đưa vào tiêu thụ, tổ yến thô có thể trải qua hàng loạt các phương pháp xử lý khác nhau để tạo ra nhiều loại sản phẩm tổ yến khác nhau. Theo sự phát triển của công nghệ, các phương pháp xử lý được chia ra thành các loại: sơ cấp, chuyên sâu và áp dụng công nghệ sinh học.

Xử lý sơ cấp là bước quan trọng đầu tiên trong việc chế biến hầu hết các sản phẩm tổ yến. Sau khi thu hoạch, tổ yến tự nhiên sẽ được phân loại tùy theo lượng lông, hình dạng, kích thước hoặc các chỉ số khác. Sau đó, chúng sẽ trải qua một loạt các phương pháp sơ chế ban đầu. Đầu tiên, tổ yến mới thu hoạch sẽ được rửa sạch với nước và bước này không chỉ có thể loại bỏ các tạp chất như bùn đất và chất thải của chim, mà còn loại bỏ một phần nitrite. Sau đó, từng chiếc lông nhỏ còn vương trong tổ sẽ được lấy ra một cách thủ công. Đây là một bước quan trọng quyết định độ sạch của tổ yến (một trong những yếu tố định giá tổ yến). Bước tiếp theo, tổ yến sẽ được tạo hình bằng khuôn hình nửa chiếc bát và được làm khô bằng quạt trong phòng sấy. Việc tạo hình và sấy khô trong không khí đôi khi sẽ lặp lại nhiều lần để có được hình dáng đẹp. Cuối cùng, tổ yến sẽ được khử trùng trước khi đóng gói và xuất xưởng. Các phương pháp khử trùng được chọn thường là chiếu tia cực tím, dùng ozone hoặc nhiệt độ cao [7].

Xử lý sâu là phương pháp giúp mở rộng thị trường tiêu thụ tổ yến do phát triển nhiều sản phẩm ăn liền và hạ giá thành. Loại sản phẩm chế biến phổ biến nhất là kẹo tổ yến. Tùy theo mục đích và các phương pháp xử lý sâu khác nhau, tổ yến thô có thể được chế biến thành nhiều loại sản phẩm khác như kẹo, thạch, đồ uống, viên sủi, các hạt kích thước nano và các dạng chất lỏng có thể ăn uống được. Một số nơi còn có thể thêm Ejiao (A giao hay cao da lừa), nhân sâm hoặc các thành phần khác để tạo hương vị đa dạng và tăng giá trị dinh dưỡng cho những sản phẩm kể trên [64] [65] [66].

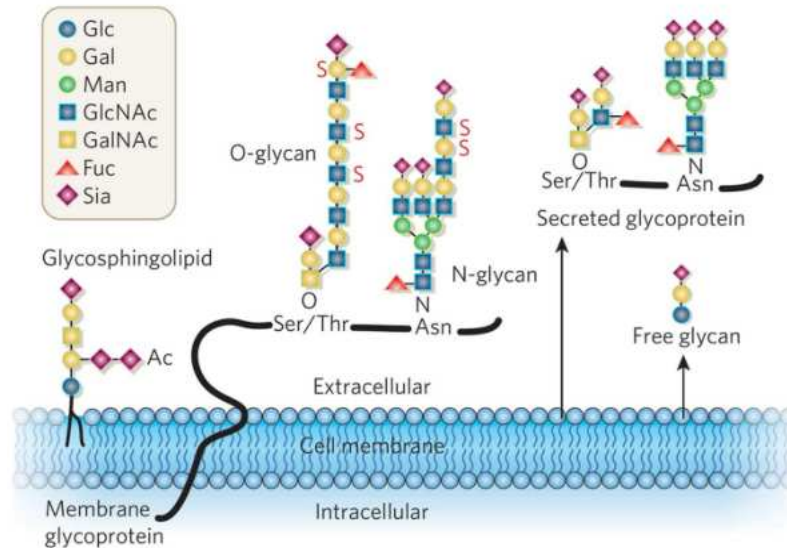
Việc áp dụng công nghệ sinh học để xử lý tổ yến chủ yếu là ứng dụng enzyme thủy phân, chiết, tách và các phương thức khác để thu nhận một số thành phần dinh dưỡng cụ thể trong tổ yến. Sử dụng sự hỗ trợ của sóng siêu âm hoặc lò vi sóng cho protease để chiết xuất SA và protein có thể làm tăng tốc độ chiết xuất [67] [68]. Đông khô dịch chiết tổ yến thành bột tổ yến thủy phân có thể giữ nguyên hàm lượng protein và đường, đồng thời giảm hàm lượng chất béo [69]. Sử dụng protease kiềm để thủy phân protein không tan trong tổ yến có thể biến đổi nó thành polypeptide hòa tan trong nước, có lợi cho quá trình tiêu hóa và hấp thụ của cơ thể người [70]. Bên cạnh đó, dịch tổ yến thủy phân bởi protease có hoạt tính làm trắng

và tạo xương mạnh hơn so với dịch chiết tổ yến chưa thủy phân [71]. Điều này cho thấy công nghệ thủy phân tổ yến bằng enzyme có tiềm năng ứng dụng rộng rãi và công nghệ này là một phương hướng triển vọng để tạo ra các loại sản phẩm cùng lúc thể hiện nhiều loại hoạt tính sinh học cũng như tối ưu hóa khả năng tận dụng tổ yến. Sản phẩm tổ yến thu được sau khi thủy phân có thể được dùng để phát triển các sản phẩm mới như thực phẩm chăm sóc sức khỏe và chăm sóc da [7].

1.2.5. Sự thủy phân tổ yến

Protein là thành phần chiếm tỉ lệ nhiều nhất trong tổ yến và được biết đến là nhân tố quan trọng đối với chức năng dinh dưỡng và dược tính của tổ yến [22]. Hầu hết protein trong tổ yến ở dạng liên kết với các gốc đường tạo thành cấu trúc glycoprotein (Hình 1.5) có kích thước lớn. Sự thủy phân glycoprotein sẽ tạo ra những đoạn glycopeptide nhỏ có hoạt tính sinh học, do đó tăng cường đặc tính chức năng và hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân [21]. Các glycopeptide hoạt tính sinh học của tổ yến có thể được tạo ra thông qua các phương pháp như chiết xuất dung môi, chiết xuất nhiệt, lên men bằng vi khuẩn và thủy phân bằng enzyme. Tuy nhiên, phương pháp thủy phân bằng enzyme được sử dụng nhiều hơn trong công nghiệp thực phẩm và dược phẩm do có hiệu suất cao, ít dung môi thừa và thân thiện với môi trường [21]. Quá trình thủy phân bằng enzyme có thể dẫn đến những thay đổi về đặc tính sinh lý, dinh dưỡng do sự xuất hiện của các peptide kích thước nhỏ, sự thay đổi phân tử điện tích hay sự tiếp xúc với nhóm kỵ nước và để lộ chuỗi bên acid amin [21]. Đặc tính chức năng thể hiện ra của sản phẩm thủy phân có thể bị thay đổi và ảnh hưởng bởi mức độ thủy phân [72]. Những enzyme tinh chế như pancreatin F, pancreatin, pepsin, flavourzyme, papain và alcalase đã được dùng để thủy phân tổ yến để tạo ra các glycopeptide hoạt tính sinh học [21].

Sự thủy phân protein tổ yến thành peptide giúp cải thiện tính tan của protein và khả năng tiếp cận sinh học đến cấu trúc protein ưa nước và những phần khác bị bao trong cấu trúc kỵ nước của tổ yến. Mặc dù tổ yến trước và sau khi thủy phân sở hữu một lượng tương đương amino acid nhưng lại thể hiện khả năng tan hoàn toàn khác nhau. Điều này liên quan đến cấu trúc glycoprotein và sự gấp cuộn của protein, peptide hay amino acid có trong tổ yến. Tổ yến có các cấu trúc phân tử phức tạp làm hạn chế sự tiếp xúc của các amino acid và peptide ưa nước với bên ngoài. Trong tổ yến thủy phân, cấu trúc protein không còn gấp cuộn, các peptide và amino acid ưa nước được đưa ra ngoài nhiều hơn nên có thể hình thành liên kết hydrogen với phân tử nước. Do đó, tính tan của dịch tổ yến sẽ phụ thuộc vào thời gian thủy phân [73].



Hình 1.5. Phân tử glycoprotein được hình thành nhờ sự liên kết của các chuỗi đường lên phân tử protein [74].

SA trong tổ yến là thành phần rất quý giá, nhưng hầu hết chúng đều tồn tại ở dạng liên kết với protein [22]. Sản phẩm thủy phân tổ yến thể hiện có chứa nhiều SA tự do hơn so với tổ yến chưa thủy phân [75] [76]. Các glycopeptide được tạo ra từ quá trình thủy phân có cấu trúc đơn giản hơn với tính tan cao hơn, do đó làm tăng cường khả năng tiếp cận sinh học của SA trên gốc glycan [77] [78]. Thời gian thủy phân tỉ lệ thuận với hàm lượng SA trong dịch thủy phân tổ yến và sự thủy phân bằng enzyme làm tăng mức khả dụng về dinh dưỡng của tổ yến do tăng lượng peptide có kích thước nhỏ và SA tự do được tạo ra [73].

Bảng 1.3. Bảng tóm tắt một số hoạt tính sinh học của tổ yến được tăng cường sau khi bị thủy phân bằng enzyme.

Hoạt tính sinh học	Loại enzyme thủy phân	Tác giả
Kháng oxy hoá và chống lão hoá	pepsin	Fan (2022) [79]
	pepsin và trypsin	Murugan (2020) [80]
	protease kiềm	Ling (2020) [81]
	pesin và trypsin	Ghassem (2017) [54]
Làm trắng	pepsin	Wong (2018) [82]
	pepsin	Fan (2022) [79]
Thúc đẩy sự biệt hoá ở tế bào xương	pepsin	Wong (2018) [82]
Thúc đẩy tế bào tăng sinh	trypsin và pepsin	Gao (2019) [24]

Hạ huyết áp	enzyme của tảo, bromelain, pancreatin	Ramachandran (2018) [61]
Chống virus cúm	trypsin	Guo (2006) [35]
Tăng khả năng hoà tan	pepsin	Fan (2022) [79]

*** Khả năng chống oxy hoá và chống lão hoá**

Fan (2022) đã so sánh tác động của tổ yến chung và tổ yến thủy phân bằng enzyme lên các tế bào HepG2 (tế bào ung thư biểu mô gan người) bị tổn thương bởi chất oxy hóa H_2O_2 [79]. Sau 2 giờ xử lý, tỉ lệ sống sót của các tế bào chỉ được xử lý với H_2O_2 giảm 40%, trong khi nghiệm thức được bổ sung thêm 1 mg/mL tổ yến chung và nghiệm thức được bổ sung 1 mg/mL tổ yến thủy phân thì tỉ lệ sống của tế bào tăng lên tương ứng khoảng 46,85% và 57,37% sau 2 giờ xử lý với H_2O_2 . Kết quả nghiên cứu của Fan cho thấy tổ yến thủy phân tăng cường đáng kể khả năng bảo vệ tế bào khỏi tác hại của oxy hoá ($p < 0,05$). Murugan (2020) đã nhận ra tổ yến thủy phân với quá trình tiêu hoá mô phỏng bởi pepsin và trypsin có thể điều chỉnh sự căng thẳng oxy hoá (oxydative stress) trên chuột và bảo vệ các tế bào nội mô khỏi tác hại của oxy hoá [80]. Ling (2020) đã báo cáo khả năng loại bỏ gốc tự do của tổ yến thủy phân bằng protease kiềm (alkaline protease) cải thiện đáng kể [81]. Ngoài ra, các thành phần trong tổ yến có khối lượng phân tử nhỏ hơn 3 kDa được báo cáo là có thể gia tăng hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa của ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) và làm giảm hàm lượng các sản phẩm peroxid hóa lipid, từ đó làm chậm quá trình lão hóa của ruồi giấm [54].

*** Khả năng làm trắng da**

Tyrosinase là một enzyme chứa đồng có thể xúc tác quá trình sản xuất melanin và các sắc tố khác từ quá trình oxy hóa tyrosine, vì vậy nó là enzyme điều chỉnh tỉ lệ sản xuất melanin trong thực vật và động vật. Do đó, việc đánh giá khả năng ức chế tyrosinase là một trong những phương pháp thông dụng nhất để nhận định các nhân tố có khả năng làm trắng da [83] [84]. Fan (2022) đã báo cáo khả năng ức chế tyrosinase nội bào của tổ yến thủy phân bằng enzyme cao hơn đáng kể so với tổ yến chung [79]. Kết quả nghiên cứu cho thấy giá trị EC50 (half max effective concentration, nồng độ hiệu quả tối đa một nửa) của tổ yến chung có hoạt tính ức chế tyrosinase là 18,74 mg/mL, và của tổ yến thủy phân bằng enzyme là 7,22 mg/mL. Fan và cộng sự tin rằng hoạt tính làm trắng được tăng cường có liên quan đến việc lượng acid silic sau thủy phân tăng lên và được hấp thu dễ hơn [79]. Thông qua việc phân giải hoàn toàn protein tổ yến thành các peptide nhỏ với hệ tiêu

hoá mô phỏng, Wong (2018) nhận thấy rằng tổ yến được tiêu hóa hoàn toàn có tác dụng ức chế khả năng tạo sắc tố và ức chế hoạt tính tyrosinase trên tế bào ung thư hắc tố da B16 (B16 melanoma) tốt hơn so với tổ yến không được thủy phân [82]. Wong và cộng sự (2018) tin rằng hoạt tính làm trắng của tổ yến thủy phân bằng enzyme tăng lên có liên quan đến việc giải phóng N-acetylneuraminic acid ở dạng kết hợp trong tổ yến sau thủy phân [82].

*** Khả năng thúc đẩy quá trình biệt hoá tế bào xương**

N-acetylglucosamine là hoạt chất có khả năng thúc đẩy tế bào xương biệt hoá, được ứng dụng rộng rãi trong các sản phẩm chăm sóc sức khỏe xương khớp. Wong (2018) nhận thấy tổ yến thủy phân có tác dụng thúc đẩy quá trình biệt hóa tế bào xương mạnh hơn tổ yến không thủy phân và cơ chế của quá trình này được suy đoán có liên quan đến việc giải phóng các phân tử đường tự do có kích thước nhỏ sau thủy phân, đặc biệt là N-acetylglucosamine [82].

*** Khả năng thúc đẩy quá trình tăng sinh tế bào**

Khả năng kích thích tế bào tăng sinh là một trong những ưu điểm nổi bật của tổ yến. Bên cạnh đó, Gao (2019) đã báo cáo các oligopeptide của tổ yến thủy phân bởi trypsin và pepsin sau khi biến tính nhiệt ở 60°C có hiệu quả tốt hơn tổ yến chưa thủy phân trong việc thúc đẩy sự tăng sinh tế bào lympho phụ thuộc tuyến ức [24].

*** Khả năng điều chỉnh huyết áp**

Ramachandran (2018) đã nhận ra khả năng hạ huyết áp của tổ yến được tăng cường sau khi thủy phân. Ramachandran và cộng sự tin rằng tổ yến thủy phân bằng enzyme táo, bromelain và pancreatin có thể được phân loại là thực phẩm chức năng do tác dụng hạ huyết áp hiệu quả của chúng [61].

*** Khả năng chống virus**

Theo Guo và cộng sự (2006), tổ yến thủy phân bằng trypsin có thể vô hiệu hóa các tế bào thận chó Madin-Darby (Madin-Darby Canine Kidney, MCDK) bị nhiễm virus cúm và ức chế quá trình đông máu của hồng cầu [35].

*** Khả năng cải thiện độ hòa tan**

Mặc dù tổ yến có khả năng giữ nước tốt nhưng độ hòa tan của protein tổ yến lại kém, theo báo cáo Wong thì tổ yến sẽ vẫn duy trì cấu trúc sau khi hầm và độ hòa tan chỉ đạt được khoảng 5% [85]. Các nghiên cứu hiện tại đã chỉ ra rằng việc thủy phân tổ yến bằng enzyme có thể cải thiện khả năng hòa tan của protein tổ yến. Đối với các đại phân tử sinh học, trọng lượng phân tử nhỏ hơn có xu hướng đi kèm với

khả năng hòa tan tốt hơn [86]. Fan (2022) nhận thấy quá trình thủy phân và quá trình đồng nhất kết hợp thủy phân có thể tăng cường đáng kể độ hòa tan của tổ yến và độ hòa tan của tổ yến sau thủy phân có thể đạt hơn 90% [79]. Wong (2021) báo cáo rằng độ hòa tan của protein tổ yến thủy phân tăng từ 13,85% lên 47,23%, độ hòa tan của đường tổng tăng từ 7,49% lên 39,02% và độ hòa tan của acid sialic tăng từ 18,69% lên 44,24% [87].

1.3. PROTEASE THỰC VẬT

Protease là enzyme thủy phân liên kết peptide trong protein, đây là những enzyme quan trọng nhất trong các ngành công nghiệp [88]. Protease thực vật đã được sử dụng trong các quy trình công nghiệp từ lâu, thậm chí trước khi con người có chút hiểu biết về bản chất và đặc tính của các enzyme [89]. Mặc dù protease thực vật đã được sử dụng trong các ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và chất tẩy rửa trong nhiều thập kỷ, nhưng chi phí sản xuất vẫn cao so với các protease có nguồn gốc vi sinh vật [88]. Do đó, chỉ có một vài loại protease có nguồn gốc thực vật được sử dụng trong công nghiệp. Một vài cystein protease có thể kể đến như papain, bromelain và ficin được áp dụng rộng rãi trong ủ rượu, đông tụ sữa hay làm mềm thịt [89]. Mặc dù vậy, protease thực vật vẫn là đối tượng hấp dẫn vì chúng có đặc tính cơ chất rộng và hoạt động trong một phạm vi nhiệt độ và pH rộng [89].

Đu đủ, dứa và sung từ lâu đã được sử dụng để sản xuất enzyme protease thương mại, với loại protease tương ứng là papain, bromelain và ficin. Những protease này đã được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm để sản xuất phô mai, lên men đồ uống và được dùng như phụ gia thực phẩm để làm mềm thịt, loại nước trong trứng và sản xuất chất nhũ hoá [88]. Ngoài ra, đu đủ không chỉ chứa papain mà còn chứa caricain, một loại protease được ứng dụng để điều chỉnh bột trong công nghiệp làm bánh [90].

Protease trong gừng được báo cáo là chất làm mềm thịt, có khả năng phân hủy tốt collagen và các protein mô liên kết khác. Hơn nữa, có ít nhất hai protease trong gừng, một trong số chúng là zingibain. Các protease trong gừng có hoạt tính đông tụ sữa tốt và đã được sử dụng trong quá trình tạo sữa đông [91].

Ha và cộng sự (2012) đã đánh giá hoạt tính protease của dịch chiết măng tây và dịch chiết kiwi lên quá trình thủy phân thịt bò (protein sợi cơ và collagen). Kết quả cho thấy hai loại dịch chiết tác dụng khác nhau lên protein sợi cơ và collagen. Do đó, các loại enzyme trong hai dịch chiết này có thể được dùng để tăng độ mềm của thịt, trong đó dịch chiết quả kiwi cho hiệu quả tốt hơn [92].

Zulkifli và cộng sự (2019) đã kiểm tra hoạt tính chống tăng đường huyết (anti-hyperglycemic) của tổ yến thủy phân bằng enzyme alcalase, papain và dịch chiết đu đủ thông qua khả năng ức chế hoạt động enzyme α -glucosidase. Kết quả ghi nhận không có hiệu quả ức chế enzyme α -glucosidase trong tổ yến chưa thủy phân và tổ yến thủy phân với alcalase và papain. Tuy nhiên, tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ lại biểu hiện khả năng ức chế trung bình đối với hoạt động của enzyme α -glucosidase [93]. Kết quả trên cho thấy trong dịch chiết đu đủ ngoài papain thì còn có các loại protease khác có khả năng tạo ra nhiều loại glycopeptide có kích thước nhỏ hơn hay thể hiện nhiều loại hoạt tính sinh học hơn. Điều này cho thấy giá trị sử dụng và phạm vi hoạt động rộng của dịch chiết thực vật.

1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG ENZYME TRÊN THẾ GIỚI VÀ Ở VIỆT NAM

1.4.1. Trên thế giới

Tổ yến là một đối tượng nhận được rất nhiều sự quan tâm của giới khoa học. Cho đến nay, đã có nhiều nghiên cứu về tổ yến được tiến hành với đa dạng các hướng nghiên cứu, từ thành phần dinh dưỡng trong tổ yến đến tác dụng dược lý. Cùng với sự phát triển của công nghệ sinh học, hướng nghiên cứu thủy phân tổ yến cũng dần mở ra, giúp hỗ trợ việc tiêu hoá tổ yến cũng như tăng cường hoạt tính sinh học của tổ yến.

Những nghiên cứu trước đây cho thấy sản phẩm thủy phân của tổ yến thể hiện khả năng kháng oxy hoá cao hơn so với dịch chiết tổ yến ban đầu (dựa trên thử nghiệm ORAC (oxygen radical absorbance capacity), FRAP (ferric reducing-antioxidant power), ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)) và DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)) [54]. Nurfatmahan và cộng sự (2016) báo cáo khả năng chống cao huyết áp của tổ yến được thủy phân bằng alcalase trong 60 phút, do đó giúp giảm áp lực máu hiệu quả. Việc sử dụng đồng thời nhiều loại enzyme để thủy phân tổ yến có thể tạo ra các đoạn peptide kích thước ngắn cũng như các peptide chứa trình tự amino acid ở các đầu đa dạng, giúp gia tăng hoạt tính sinh học của tổ yến [94]. Trong nghiên cứu khác, enzyme pancreatin F được dùng để tạo tổ yến thủy phân cho thử nghiệm hoạt tính kháng virus. Ghassem đã tiến hành thủy phân tổ yến lần lượt với enzyme pepsin và trypsin để đánh giá đặc tính kháng oxy hoá của sản phẩm thủy phân. Các glycopeptide có khả năng loại bỏ gốc tự do mạnh nhất được tinh chế thêm bằng phương pháp lọc gel và sắc ký lỏng hiệu năng cao ngược pha (Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography, RP-HPLC). Phân đoạn peptide có hoạt tính mạnh nhất được giải trình tự bằng sắc

ký lỏng khối phổ ion hóa tia điện cực thời gian bay (Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry, LC-ESI-TOF MS). Kết quả nghiên cứu cho thấy chuỗi peptide mang hoạt tính sinh học cụ thể có thể được tạo ra thông qua quá trình thủy phân bằng enzyme cụ thể [21].

1.4.2. Ở Việt Nam

Việt Nam là quốc gia nằm trong khu vực Đông Nam Á, được xem là một trong những nước có sản lượng tổ yến lớn trên thế giới. Mặc dù việc sử dụng và am hiểu về công dụng của tổ yến có từ thời xa xưa, số lượng các công bố khoa học về tổ yến tại Việt Nam tương đối ít, trong đó các công bố về sản phẩm thủy phân của tổ yến còn hạn chế. Viện Công nghệ sinh học Hà Nội tiến hành một số thử nghiệm thăm dò tác dụng của tổ yến lên chuột nhắt trắng và thu được các kết quả sau. Tổ yến hỗ trợ chuột tăng nhanh khối lượng lên khoảng 16,4% sau 30 ngày nuôi so với chuột đối chứng không được sử dụng tổ yến. Tác dụng giải độc của tổ yến thể hiện qua việc chuột ăn thức ăn có thuốc trừ sâu với liều lượng 3 mg/kg cùng dịch chiết tổ yến thì sau 30 ngày nuôi vẫn tăng khối lượng so với đối chứng giảm 13% cân nặng. Tác dụng tăng lực của tổ yến thể hiện qua việc làm tăng lượng hồng cầu trong máu chuột và giảm lượng bạch cầu. Khả năng chống phóng xạ được tăng cường trên chuột tiêu thụ tổ yến với tỉ lệ sống sót 65% cao hơn so với 45% đối với chuột không uống dịch chiết tổ yến sau khi chiếu xạ coban 60 lên cơ thể chuột với liều 8 Gy [95]. Kết quả của những công trình nghiên cứu ở trên cho thấy tổ yến có nhiều tiềm năng trong việc tạo ra các sản phẩm giúp tăng cường sức khoẻ ở người nói riêng và của động vật nói chung.

Năm 2020, công ty Cổ phần nước giải khát Sanest Khánh Hoà đã công bố thành quả nghiên cứu mức độ thủy phân và hoạt tính chống oxy hoá của dịch tổ yến Khánh Hoà thủy phân bằng enzyme protamex và bromelain. Kết quả nghiên cứu cho thấy enzyme bromelain thể hiện khả năng thủy phân tốt nhất lên dịch tổ yến 1% ở điều kiện ủ 60°C trong 3 giờ với nồng độ sử dụng là 0,5%, trong khi đó enzyme protamex cần sử dụng ở nồng độ 0,7% và điều kiện ủ 55°C trong 4 giờ mới thể hiện khả năng thủy phân tối ưu nhất. Ngoài ra, nghiên cứu còn cho thấy mặc dù hàm lượng protein tổng số không có thay đổi đáng kể trước và sau khi thủy phân nhưng có đến hơn 90% polypeptide được cắt nhỏ tạo thành các protein hoà tan và các acid amin tự do. Đồng thời, dịch thủy phân tổ yến thể hiện khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH và hoạt tính chống oxy hoá tổng tăng gấp 4 lần [96]. Kết quả nghiên cứu trên cho thấy tiềm năng ứng dụng sản phẩm tổ yến thủy phân để sản xuất các dòng sản phẩm mới, dễ sử dụng, dễ hấp thu và có khả năng thể hiện hoạt tính sinh học tốt hơn so với tổ yến chưa thủy phân.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. VẬT LIỆU

2.1.1. Nguyên vật liệu

Tổ yến được cung cấp bởi Công ty trách nhiệm hữu hạn thương mại dịch vụ phát triển Phước Tín (Cơ sở kinh doanh đảm bảo chỉ tiêu an toàn thực phẩm được Ban quản lý an toàn thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh cấp chứng nhận, sản phẩm tổ yến từ công ty đã đạt hạng 4 tại cuộc thi đánh giá phân hạng sản phẩm năm 2021). Tổ yến dùng trong thí nghiệm sẽ được nghiên và pha với nước cất với nồng độ 2% (khối lượng/thể tích, w/v). Hỗn hợp này sẽ được chuẩn bị mới cho mỗi lần thí nghiệm và không lưu trữ qua ngày.

Dịch ép thực vật dùng trong nghiên cứu được thu nhận từ đu đủ, gừng và măng tây tươi thu mua ngoài chợ và siêu thị ở Thành phố Hồ Chí Minh. Đu đủ được chọn là loại đu đủ ruột đỏ chín vừa, không bị hư hỏng hay dập úng, thịt quả có độ mềm vừa phải không quá cứng (đu đủ non) cũng không quá mềm và bở (đu đủ quá chín) nhằm thuận tiện cho việc thu nhận dịch ép. Gừng được chọn lấy dịch ép phải còn tươi, không mọc mầm, không bị hư hỏng hay khô héo. Măng tây được chọn lấy dịch ép phải còn tươi, không bị hư hỏng, dập úng hay khô héo. Tất cả nguyên liệu được xử lý thu dịch ép trong vòng 12 giờ sau khi mua. Sau khi gọt vỏ và rửa sạch, nguyên liệu sẽ được nghiền, ép, vắt để lấy phần nước ép và ly tâm 6000 vòng/phút trong 10 phút ở 10°C để thu nhận phần dịch nổi. Dịch ép của đu đủ, gừng và măng tây thu nhận sau khi ly tâm sẽ được trữ ở -20°C khi chưa dùng đến.

Nguyên bào sợi người được cung cấp bởi Viện Kỹ thuật công nghệ cao-NTT, trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

2.1.2. Hoá chất và thiết bị

Trang thiết bị máy móc và dụng cụ dùng để tiến hành nghiên cứu được hỗ trợ bởi Viện Kỹ thuật công nghệ cao-NTT, trường Đại học Nguyễn Tất Thành như micropipette, tủ sấy, cân phân tích, tủ lạnh -20°C, tủ sấy, máy lắc, máy ly tâm, máy vortex, bể ổn nhiệt, bộ dụng cụ điện di, máy quang phổ và tủ nuôi cấy tế bào.

Các hoá chất được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm:

- Xác định protease tổng: dung dịch casein 0,65% (w/v), trichloroacetic acid (TCA), Na_2CO_3 0,5 M, thuốc thử Folin-Ciocalteu.

- Điện di protein SDS-PAGE: polyacrylamide, glycerol, sodium dodecyl sulfate (SDS), dichloro-diphenyl-trichloroethane (DTT), 2-mercaptoethanol,

ammonium persulfate (APS), N,N,N',N'-tetramethylethane-1,2-diamine (TEMED), Coomassie blue, cồn, acid acetic, Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethane)-base và Tris-HCl.

- Phương pháp ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), $K_2S_2O_8$, vitamin C.

- Phương pháp ức chế enzyme tyrosinase: dung dịch L-tyrosine 0,3 mg/mL, acid kojic 35 μ g/mL, enzyme tyrosinase 250 U/mL, dung dịch đệm phosphate (Phosphate Buffered Saline, PBS) pH 6,8.

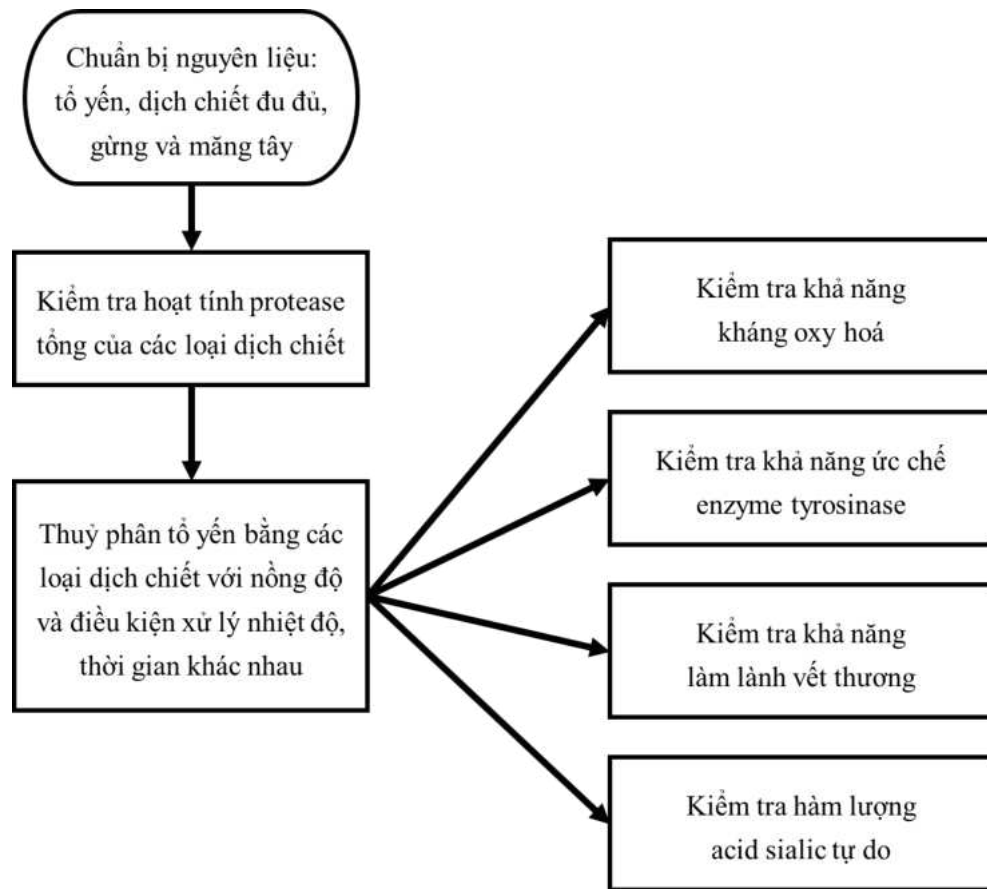
- Kiểm tra làm lạnh vết thương *in vitro*: môi trường nuôi cấy tế bào Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), huyết thanh thai bò (Fetal Bovine Serum, FBS), kháng sinh penicillin/streptomycin, kháng nấm amphotericine b, dung dịch 0,25% trypsin-EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid), PBS pH 7,0 – 7,4.

- Thành phần môi trường DMEM: 4 mM L-glutamine; 4500 mg/L glucose; 1 mM sodium pyruvate; 1500 mg/L sodium bicarbonate.

- Kiểm tra hàm lượng acid sialic tự do: dung môi A (LC-MS grade water; 0,1% acid formic), dung môi B (LC-MS grade acetonitril; 0,1% acid formic).

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Quy trình thí nghiệm được tiến hành theo sơ đồ được miêu tả trong Hình 2.1.



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát của đề tài.

2.2.1. Phương pháp Anson sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu để xác định hoạt tính protease tổng của dịch chiết thực vật

Phương pháp này dựa trên nguyên tắc thuốc thử Folin-Ciocalteu phản ứng với tyrosine tự do tạo chất mang màu có thể đo được bằng máy đo quang phổ. Tiến hành pha loãng dịch ép đu đủ 10 lần, dịch ép gừng 2 lần và dịch ép măng tây 10 lần với nước. Đồng thời chuẩn bị 4 ống nghiệm cho đối chứng âm và mẫu dịch ép. Quy trình kiểm tra protease tổng của từng loại dịch ép (đu đủ, gừng và măng tây) được tiến hành như sau. Tiến hành ủ 5 mL dung dịch casein 0,65% (khối lượng/thể tích, w/v) ở 37°C trong 5 phút. Thêm X mL dịch chiết đã pha loãng vào các ống mẫu (X: thể tích mẫu ≤ 1 mL), lắc đều và ủ ở 37°C trong 10 phút. Tiếp tục thêm 5 mL dung dịch trichloroacetic acid (TCA) 100 mM vào mỗi ống và lắc đều. Bổ sung (1 – X) mL dịch chiết đã pha loãng vào các ống mẫu và đối chứng âm, lắc đều và ủ ở 37°C trong 30 phút. Ly tâm hỗn hợp sau khi ủ với 6000 vòng/phút trong 3 phút và thu dịch trong (W). Chuẩn bị 4 ống nghiệm khác và hút 5 mL Na₂CO₃ 0,5 M vào mỗi ống. Cho 1 mL dịch W vào mỗi ống. Thêm 1 mL Folin Ciocalteu 0,5 M vào mỗi

ống và mang đi ủ ở 37°C trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 660 nm của hỗn hợp. Xác định hàm lượng tyrosine tự do có trong hỗn hợp dựa trên đường chuẩn L-tyrosine và tính toán hoạt độ protease tổng của dịch ép.

Xây dựng đường chuẩn L-tyrosine bằng cách chuẩn bị 7 ống nghiệm lần lượt chứa Y (0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8) mL tương ứng với (0; 0,055; 0,111; 0,221; 0,442; 0,884) μmol L-tyrosine. Bổ sung (1 – Y) mL nước cất vào mỗi ống. Hút 5 mL Na_2CO_3 0,5 M vào mỗi ống. Thêm 1 mL Folin Ciocalteu 0,5 M vào mỗi ống và ủ 37°C trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang học của hỗn hợp ở bước sóng 660 nm. Đường chuẩn L-tyrosine được xây dựng bằng phần mềm Microsoft Excels.

Hoạt độ protease được biểu diễn dưới dạng đơn vị hoạt tính của enzyme trong 1 mL (U/mL) trong đó 1 đơn vị hoạt tính enzyme là lượng protease có thể thủy phân casein và tạo ra màu tương đương với 1 mol tyrosine (181 g) mỗi phút trong điều kiện thí nghiệm. Hoạt độ protease tổng của dịch ép được tính theo công thức sau [97].

$$A = ((\mu\text{mol tyrosine}) \times B) / (C \times D \times E)$$

Trong đó,

A: hoạt độ protease (U/mL);

B: tổng thể tích phản ứng (mL);

C: thời gian phản ứng (phút);

D: thể tích dịch ép được dùng (mL);

E: thể tích phản ứng dùng để hiện màu Folin (mL).

2.2.2. Phương pháp khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết thực vật ở các điều kiện khác nhau về nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian thủy phân

Cho phần dịch chiết với các nồng độ (20%, 10%, 5% và 2,5%) có hoạt độ protease tổng đã xác định trước vào dung dịch tổ yến 2% và ủ ở các điều kiện nhiệt độ 25°C; 37°C và 60°C trong các khoảng thời gian 1 giờ ; 2 giờ và 4 giờ. Sau thời gian ủ, tiến hành xử lý nhiệt 90°C trong 15 phút để bất hoạt enzyme của dịch chiết trong hỗn hợp, ly tâm 8000 vòng/phút ở 10°C trong 10 phút và hút 30 μL dịch nổi hoà với 10 μL dung dịch đệm điện di 4X. Sau khi xử lý mẫu ở 90°C trong 10 phút, tiến hành chạy điện di protein bằng phương pháp SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis).

Phương pháp điện di protein dựa trên khả năng phân tách protein theo khối

lượng phân tử. Trong phương pháp này, sodium dodecyl sulfate (SDS), dichlorodiphenyl-trichloroethane (DTT) và 2-mercaptoethanol có trong dung dịch đệm mẫu (sample buffer) chuyển các protein về cấu trúc bậc 1 và tạo điện tích âm tỷ lệ thuận theo khối lượng. Mẫu kiểm tra sẽ được trộn với sample buffer 4X với tỉ lệ 30 μL mẫu và 10 μL sample buffer 4X. Hỗn hợp mẫu sau đó sẽ được mang đi gia nhiệt ở 90°C trong 10 phút để biến tính protein. Sau đó, tiến hành bơm 7 μL hỗn hợp mẫu vào giếng trên gel gom và tiến hành chạy điện di. Dòng điện đi từ cực âm ở phía đầu gel gom sẽ kéo theo các phân tử protein tích điện âm ở gel gom đi qua gel tách hướng đến điện cực dương ở cuối gel tách (12%). Sau khi kết thúc quá trình điện di, kết quả điện di sẽ được quan sát trên bản gel đã được nhuộm với Coomassie blue. Các phân tử protein có kích thước càng nhỏ sẽ xuất hiện ở sâu phía dưới phần gel tách, và ngược lại các protein có kích thước càng lớn thì sẽ xuất hiện ở càng gần phần gel gom [98].

2.2.3. Phương pháp 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) đánh giá khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến sau khi được thủy phân bằng dịch chiết thực vật

Trong phương pháp ABTS, kali persulfate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) sẽ oxy hoá ABTS không màu tạo thành các gốc tự do bền $\text{ABTS}^{+\cdot}$ màu xanh lam có độ hấp thụ quang học tối đa ở các bước sóng 414, 645, 734 và 815 nm trong dung dịch thuốc thử [99]. Các chất sở hữu hoạt tính kháng oxy hoá có khả năng khử $\text{ABTS}^{+\cdot}$ thành ABTS và làm mất đi màu xanh cũng như làm giảm giá trị độ hấp thụ quang học của dung dịch thuốc thử. Cường độ màu của dung dịch thuốc thử càng giảm tương ứng với khả năng kháng oxy hoá của mẫu kiểm tra càng cao, và ngược lại [99] [100].

Dung dịch ABTS được chuẩn bị ở nồng độ 7 mM trong dung dịch $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,45 mM. ABTS 7 mM sau đó được pha loãng trong nước cất đến độ hấp thụ quang học ở bước sóng 734 nm là 0,7. Mẫu cần kiểm tra là sản phẩm tổ yến thủy phân bởi các dịch chiết ở thí nghiệm 1 trong điều kiện dịch chiết đủ, gừng và măng tây thể hiện khả năng thủy phân tổ yến tốt nhất. Điều kiện được chọn từ kết quả thí nghiệm 1 là các sản phẩm tổ yến thủy phân bởi các loại dịch chiết đủ, gừng, măng tây ở nồng độ 20% và được xử lý ở nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Đầu tiên, chuẩn bị dãy nồng độ pha loãng 50% của các mẫu cần kiểm tra và bổ sung nước cất để thể tích mỗi ống mẫu là 100 μL , bao gồm: tổ yến 2% với 9 lần pha loãng; dịch chiết thực vật 20% với 9 lần pha loãng; các mẫu tổ yến thủy phân bởi dịch chiết thực vật ở các nồng độ (20%, 10%, 5% và 2,5%) với 5 lần pha loãng cho mỗi nồng độ dịch chiết thực vật; đối chứng âm với 100 μL nước cất (Lưu ý: pha thêm các ống chứa lượng

dịch chiết thực vật tương ứng có trong nền của các mẫu tổ yến thủy phân bởi dịch chiết thực vật đó khi chúng có màu ảnh hưởng đến kết quả đo độ hấp thụ quang học của mẫu và bổ sung thêm nước cất để thể tích trong ống đạt đủ 100 μL). Cho 100 μL mẫu hoà vào 900 μL ABTS, ủ 30 phút trong điều kiện tối. Đo độ hấp thụ quang học A734 nm. Khả năng kháng oxy hoá của mẫu được xác định thông qua phần trăm ức chế gốc tự do ABTS^{•+} (I%) [100].

$$I\% = 100 - 100 \times (A2 - A3)/A1$$

Trong đó,

I%: Phần trăm ức chế gốc tự do ABTS (%);

A1: Giá trị mật độ quang của đối chứng âm (chỉ chứa ABTS);

A2: Giá trị mật độ quang của mẫu thử sau phản ứng với ABTS;

A3: Giá trị mật độ quang của đối chứng trắng (không chứa ABTS).

2.2.4. Phương pháp ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase đánh giá khả năng ức chế enzyme của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết thực vật

Tyrosinase là một enzyme oxy hoá amino acid tyrosin thành các sắc tố melanin, là các loại hắc sắc tố tìm thấy được trên hầu hết sinh vật, bao gồm cả con người. Phương pháp ức chế tyrosinase dựa trên khả năng ức chế hoạt động của enzym tyrosinase, qua đó có thể làm hạn chế việc sản sinh các hắc sắc tố melanin có khả năng làm màu của mẫu kiểm tra nâu hoá. Dựa vào cường độ màu của hỗn hợp sau phản ứng, khả năng ức chế enzyme tyrosinase của mẫu sẽ được xác định [22].

Hoá chất cần chuẩn bị bao gồm dung dịch enzyme tyrosinase 250 U/mL, dung dịch L-tyrosine 0,3 mg/mL, dung dịch acid kojic 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dung dịch tổ yến 2%, sản phẩm tổ yến thủy phân ở các nồng độ khác nhau, dịch chiết tương ứng có nồng độ khảo sát lớn nhất. Kiểm tra tác dụng ức chế enzym tyrosinase *in vitro* trên đĩa UV 96 giếng, tiến hành đo độ hấp thụ quang học 480 nm trên hệ thống máy đọc ELISA ở 37°C. Chứng dương là acid kojic, chứng âm sẽ thay mẫu bằng dung dịch đệm PBS, chứng trắng sẽ chỉ gồm dịch chiết và PBS. Xác định giá trị phần trăm ức chế của các mẫu.

Một hỗn hợp phản ứng 210 μL gồm có:

- 70 μL dung dịch đệm PBS pH 6,8;
- 60 μL dung dịch acid kojic hoặc mẫu thử ở các nồng độ khác nhau;
- 10 μL enzyme tyrosinase;
- 70 μL dung dịch cơ chất L-tyrosine.

Tiến hành nạp dung dịch đệm PBS và các mẫu tổ yến thủy phân, loại dịch chiết tương ứng, tổ yến 2%, acid kojic (chứng dương), chứng âm, chứng trắng vào đĩa 96 giếng. Đối chứng âm có các thành phần tương tự như mẫu thử nhưng dung dịch mẫu thử được thay bằng dung dịch đệm PBS, đối chứng trắng thì chỉ bao gồm 60 μ L dung dịch mẫu hay mẫu pha loãng và 150 μ L dung dịch đệm PBS. Tiếp theo, tiến hành nạp enzyme tyrosinase vào và ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Sau đó, tiến hành nạp L-tyrosine vào và ủ đĩa 96 giếng bằng máy ủ ELISA ở nhiệt độ 37°C trong chế độ lắc nhẹ 60 phút và tiến hành đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 480 nm cứ mỗi 5 phút. Phần trăm ức chế enzym tyrosinase (I%) được tính theo công thức sau [22].

$$I\% = 100 - 100 \times (A2 - A3)/A1$$

Trong đó

I%: Phần trăm ức chế enzyme tyrosinase (%);

A1: Giá trị mật độ quang của đối chứng âm (mẫu thay bằng PBS);

A2: Giá trị mật độ quang của mẫu thử sau phản ứng;

A3: Giá trị mật độ quang của đối chứng trắng (L-tyrosin và tyrosinase thay bằng PBS).

2.2.5. Phương pháp kiểm tra hoạt tính làm lành vết thương *in vitro* của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng các dịch chiết thực vật

Khả năng làm lành vết thương *in vitro* của một số sản phẩm tổ yến thủy phân được kiểm tra trên nguyên bào sợi người. Bên cạnh đó, dung dịch tổ yến 2%, các loại dịch chiết thực vật và nước sẽ được dùng làm đối chứng để so sánh và đánh giá mức độ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân từ loại dịch chiết thực vật tương ứng.

Nuôi cấy tế bào. Môi trường nuôi cấy tế bào được dùng là Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) có bổ sung 10% huyết thanh thai bò (FBS), 100 μ g/mL kháng sinh penicillin/streptomycin và kháng nấm amphotericin b. Nguyên bào sợi (fibroblast) được nuôi trong môi trường ở 37°C với 5% CO₂. Quan sát với kính hiển vi soi ngược kiểm tra nếu Fibroblast đạt mật độ bám trải đến 80% thì tiến hành tách ra khỏi bề mặt nuôi cấy bằng dung dịch 0,25% trypsin-EDTA. Trước khi ủ với dung dịch 0,25% trypsin thì cần phải bỏ môi trường nuôi đi và rửa tế bào với PBS (dung dịch đệm muối đệm phosphate) pH 7,0 – 7,4. Sau đó thêm môi trường nuôi cấy vào và ly tâm để thu phần cặn tế bào. Hoà phần cặn tế bào thu được sau ly tâm vào 2 mL môi trường nuôi cấy và tiến hành đếm tế bào bằng buồng đếm hồng

cầu. Pha loãng fibroblast sau khi kiểm tra đến mật độ 5×10^5 tế bào/mL trong môi trường nuôi cấy và chuyển sang đĩa 6 giếng (6-well plate) để tiếp tục nuôi ở điều kiện 37°C , 5% CO_2 và chuẩn bị cho giai đoạn tạo vết thương [101].

Tạo và làm lành vết thương. Nguyên bào sợi (fibroblast) được nuôi trong đĩa 6 giếng tại mật độ ban đầu là 5×10^5 tế bào/mL ở 37°C và 5% CO_2 . Sau một khoảng thời gian, môi trường cũ được thay bằng môi trường nuôi cấy mới với sự điều chỉnh FBS thành 1% và tiếp tục quá trình nuôi. Sau một khoảng thời gian, tổn thương được tạo ra bằng tip 10 μL (Eppendorf, Mỹ) với các đường cắt dài, giúp loại bỏ các tế bào bám theo diện tích bề mặt của đầu tip 10 μL . Môi trường cũ sau đó được thay thế bằng môi trường chứa 1% FBS và 50 μL mẫu kiểm tra hoặc đối chứng trong 2 mL hỗn hợp của mỗi giếng. Đối chứng là mẫu tế bào trong môi trường nuôi cấy với 1% FBS và dung dịch tổ yến 2% hoặc dịch chiết thực vật với thể tích tương đương với thể tích tổ yến thủy phân bổ sung (mẫu không xử lý với tổ yến thủy phân). Hình ảnh vết thương được ghi nhận sau 12 giờ và 24 giờ. Mức độ khép vết thương được phân tích bằng phần mềm ImageJ [101].

2.2.6. Phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS) để kiểm tra hàm lượng acid sialic tự do trong các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng các dịch chiết thực vật

Tiến hành định lượng acid sialic tự do trong một số sản phẩm tổ yến thủy phân bởi các dịch chiết thực vật bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (Liquid Chromatography with tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS) bằng máy LC-MS/MS với chất chuẩn là acid sialic tinh chế, đối chứng bao gồm dung dịch tổ yến 2% và các dịch chiết thực vật tương ứng. Ghi nhận kết quả hàm lượng acid sialic tự do trong các mẫu kiểm tra. Giá trị hàm lượng acid sialic tự do của các mẫu sản phẩm thủy phân sẽ được đánh giá, so sánh với các đối chứng và so sánh với nhau.

Phương pháp LC-MS/MS (sắc ký lỏng khối phổ hai lần) được tiến hành trên hệ thống bao gồm một máy sắc ký lỏng nối với một máy khối phổ. Máy sắc ký lỏng khối phổ là phương pháp được dùng trong phân tích vết các hợp chất cần được xác định chính xác. Trong những điều kiện vận hành nhất định ngoài thời gian lưu đặc trưng, các chất còn được nhận danh bằng khối phổ (tỷ số khối lượng (m)/ điện tích (z)) của nó. Đầu tiên, quá trình phân tách bằng phương pháp sắc ký lỏng được thực hiện với cột C18 (kích thước hạt 3,5 μm). Thể tích mẫu được nạp vào là 2 μL , pha động gồm dung môi A (LC-MS grade water; 0,1% acid formic) và dung môi B (LC-MS grade acetonitril; 0,1% acid formic) sẽ được bơm luân phiên nhau mỗi 5 phút

với tốc độ dòng 0,4 mL/phút. Sau khi chạy được khoảng 80% dung môi B, hệ thống sẽ chạy 100% dung môi A trong 30 giây. Để cân bằng cột sắc ký thì cần chạy 10 phút. Sau khi được phân tách bằng máy sắc ký, mẫu sẽ được chuyển sang trạng thái ion hoá với kỹ thuật ion hoá tia điện (ElectroSpray Ionization, ESI) ở vùng trung gian trước khi đi vào hệ thống máy khối phổ để phân tích chính xác khối lượng phân tử của chất cần kiểm tra dựa trên sự chuyển động của các ion nguyên tử hay ion phân tử trong điện trường hay từ trường xác định. Các ion tạo thành này được tách theo tỉ số giữa khối lượng và điện tích (m/z) và phát hiện, từ đó có thể cho thông tin về khối lượng hoặc cấu trúc phân tử của hợp chất [22].

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH PROTEASE TỔNG CỦA DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, DỊCH CHIẾT GỪNG VÀ DỊCH CHIẾT MĂNG

Enzyme là những protein có chức năng xúc tác các phản ứng sinh học giúp chuyển hoá một số cơ chất thành sản phẩm của vi sinh vật, thực vật và động vật [102]. Số lượng và hàm lượng enzyme trong mỗi loài thực vật khác nhau tùy thuộc vào từng chu kỳ sống khác nhau của chúng. Vì vậy, hệ enzyme của từng loài thực vật không giống nhau và đặc trưng cho mỗi loài. Protease là nhóm enzyme có khả năng phân huỷ protein. Chúng có mặt trong tất cả mô thực vật và giữ vai trò quan trọng đối với nhiều quá trình sinh lý khác nhau xuyên suốt chu kỳ sống của thực vật như sự sinh trưởng của cây, sự già đi, quá trình chín của quả, sự chết theo chương trình của tế bào,... [90] [103].

Kết quả kiểm tra hoạt tính protease tổng của các loại dịch chiết dùng trong thử nghiệm (đu đủ, gừng và măng tây) theo phương pháp Anson được trình bày trong Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Hoạt tính protease tổng của dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây theo phương pháp Anson.

Loại dịch chiết	Giá trị hoạt tính protease tổng (U/mL)
Đu đủ	$0,866 \pm 0,042$
Gừng	$0,416 \pm 0,030$
Măng tây	$0,780 \pm 0,044$

Theo Bảng 3.1, hoạt tính protease tổng cao nhất ở dịch chiết đu đủ ($0,866 \pm 0,042$ U/mL), tiếp đó đến dịch chiết măng tây ($0,780 \pm 0,044$ U/mL). Dịch chiết gừng có hoạt tính protease thấp nhất trong ba đối tượng thử nghiệm ($0,416 \pm 0,030$ U/mL).

Dựa theo những báo cáo về tỉ lệ thành phần hoá học trong thực phẩm của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA), hàm lượng protein có trong 100g của quả đu đủ dao

động từ 0,25 đến 0,75 g; hàm lượng protein trong 100 g củ gừng dao động từ 1,5 đến 2,23 g; hàm lượng protein trong 100 g măng tây dao động từ 2,14 đến 2,25 g [104] [105] [106]. Protein là thành phần chính cấu tạo enzyme. Tuy nhiên, hàm lượng protein trong mỗi quả đu đủ, gừng hay măng tây không hoàn toàn giống nhau khi so sánh với những quả đu đủ, gừng hay măng tây khác mà dao động trong một khoảng nhất định. Điều này cho thấy hàm lượng enzyme trong mỗi cá thể thực vật sẽ có giá trị riêng và chênh lệch với các cá thể thực vật cùng loài khác trong một khoảng nhất định.

Trong báo cáo của Sun (2016), nhóm nghiên cứu đã sử dụng phương pháp Anson để phân tích và so sánh hoạt độ protease của trái cây và rau củ ở những điều kiện pH cố định 3,0; 7,5 và 10,5. Hoạt độ protease của quả đu đủ được báo cáo ở những điều kiện pH 3,0; 7,5 và 10,5 tương ứng lần lượt là $23,1 \pm 1,1$ U/g; $18,8 \pm 0,9$ U/g và $3,8 \pm 0,1$ U/g. Tương tự, hoạt độ protease của gừng được kiểm tra trong những điều kiện pH tương ứng lần lượt là $16,6 \pm 1,1$ U/g; $15,1 \pm 0,9$ U/g và $0,7 \pm 0,1$. Hoạt độ protease của măng tây chỉ được ghi nhận ở trường hợp pH 3,0 và 7,5 với giá trị tương ứng lần lượt là $5,0 \pm 0,3$ U/g và $14,1 \pm 0,6$ U/g [107]. Mặc dù đều cùng sử dụng phương pháp Anson để xác định hoạt độ protease của các đối tượng nghiên cứu, nguồn nguyên liệu đầu vào cũng như nồng độ và tỉ lệ của các chất được sử dụng có thể là nguyên nhân của sự khác biệt kết quả trong nghiên cứu này với dữ liệu trong báo cáo của Sun. Nhóm nghiên cứu của Sun xác định hoạt độ protease của 20 g nguyên liệu ở những điều kiện pH cố định là 3,0; 7,5 và 10,5. Trong khi nghiên cứu này kiểm tra hoạt độ protease của nguyên liệu là dịch ép thực vật với điều kiện pH phụ thuộc vào pH tự nhiên của từng loại dịch ép. Việc trích, ép lấy dịch có thể chỉ thu nhận được một phần protease có trong thực vật trong khi phần xác nguyên liệu bỏ đi vẫn còn chứa một ít hoặc phần lớn protease của mẫu thực vật đó. Ngoài ra, quá trình thu nhận dịch ép trong nghiên cứu này không áp dụng vắt khô kiệt để thu nhận toàn bộ dịch ép của thực vật mà chất lượng dịch ép tùy thuộc vào khả năng ép, vắt thủ công của người tiến hành thí nghiệm. Bên cạnh đó, mục tiêu và phương hướng sử dụng dịch ép trong nghiên cứu này nhằm kiểm tra khả năng thủy phân protein tổ yến một cách tự nhiên với pH tự nhiên của dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây. Mỗi loại enzyme khác nhau có khoảng pH hoạt động tối ưu khác nhau, trong khi mỗi loại thực vật lại có một hệ enzyme khác nhau. Vì vậy, việc cố định một độ pH giống nhau có thể khiến khả năng hoạt động một số loại protease cũng như nhiều loại enzyme khác trong các đối tượng nghiên cứu sẽ bị ảnh hưởng. Điều này đã được chứng minh trong báo cáo của Sun [107]. Khi có sự thay đổi pH (3,0; 7,5 và 10,5) thì hoạt độ protease của cùng một đối tượng bị thay đổi, có những

trường hợp sự thay đổi pH khiến protease của đối tượng đó bị bất hoạt. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu này cũng tương đồng với nghiên cứu của Sun ở điểm là cả ba đối tượng nghiên cứu đu đủ, gừng và măng tây đều có hoạt tính protease.

Do các loài thực vật khác nhau có hệ enzyme protease khác nhau, hoạt tính protease tổng thu nhận được thể hiện khả năng hoạt động của hệ enzyme đặc trưng cho từng loài. So sánh với một đối tượng đã sử dụng phương pháp Anson tương tự nghiên cứu này để đánh giá về protease thực vật là quả su su trong báo cáo của Ketut (2015), hoạt tính protease tổng của dịch chiết su su được ghi nhận khoảng 0,005 U/mL [97]. Điều này cho thấy hoạt tính protease của cả ba loại dịch ép dùng trong nghiên cứu này đều cao hơn so với hoạt tính protease trong dịch quả su su rất nhiều. Đồng thời, kết quả thử nghiệm cũng giúp dự đoán khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết dịch chiết gừng có thể kém hơn dịch chiết đu đủ và dịch chiết măng tây.

3.2. KẾT QUẢ KHẢO SÁT KHẢ NĂNG THỦY PHÂN TỔ YẾN CỦA DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở CÁC ĐIỀU KIỆN KHÁC NHAU VỀ NỒNG ĐỘ DỊCH CHIẾT, NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN THỦY PHÂN

Sau khi xác định hoạt độ protease tổng của các đối tượng nghiên cứu (đu đủ, gừng và măng tây) cũng như khẳng định tiềm năng thủy phân protein tổ yến của chúng, quá trình kiểm tra và đánh giá khả năng thủy phân tổ yến cụ thể của dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây sẽ được tiến hành theo các bố trí thí nghiệm được đề cập trong mục 2.2.2.

3.2.1. Kết quả khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ

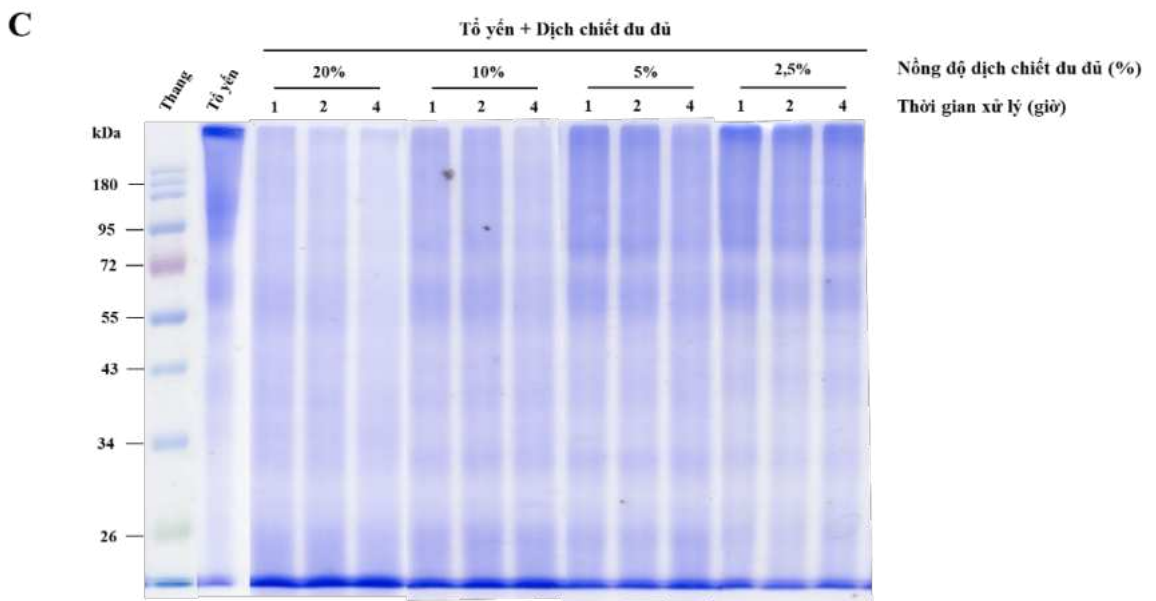
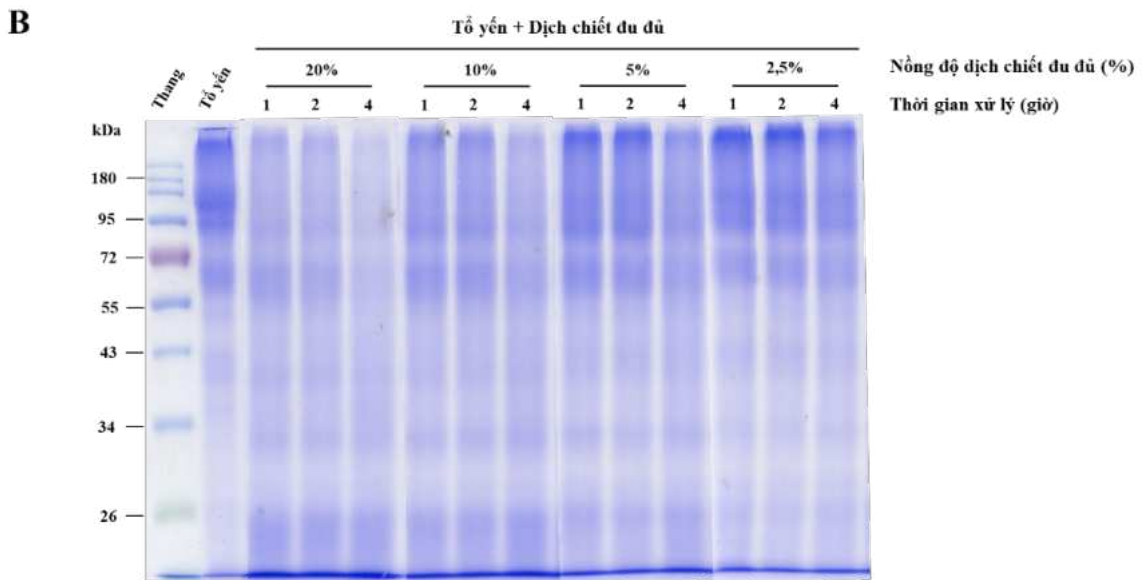
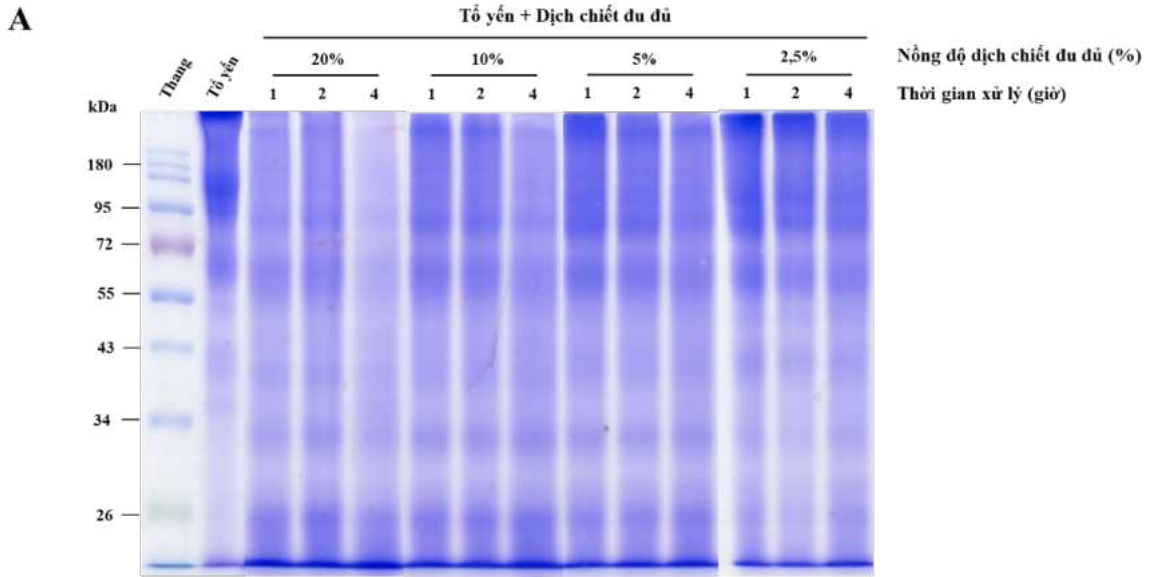
Kết quả điện di cho thấy protein tổ yến trong nghiên cứu này phân lớn có kích thước lớn hơn 55 kDa. Khi bổ sung dịch chiết đu đủ vào dịch tổ yến, các protein này bị thủy phân thành các sản phẩm có kích thước nhỏ hơn, được thể hiện qua sự mờ dần của các băng protein có kích thước lớn nằm ở phía trên gel điện di và sự xuất hiện của các băng protein có kích thước nhỏ hơn nằm ở phía dưới gel điện di.

Sự thủy phân protein tổ yến phụ thuộc vào nồng độ dịch chiết đu đủ và thời gian xử lý tương đối rõ ràng ở 25°C. Ở cùng một thời gian thủy phân, nồng độ dịch chiết càng cao thì khả năng thủy phân protein tổ yến càng mạnh. Protein bị thủy phân kém nhất khi nồng độ dịch chiết đu đủ sử dụng là 2,5% và mạnh nhất khi nồng độ dịch chiết đu đủ sử dụng là 20%. Tương tự, ở cùng một nồng độ, sự thủy phân protein tổ yến tăng lên khi tăng thời gian xử lý lên 4 giờ. Ví dụ, tại nồng độ

dịch chiết đủ 5%, hiệu quả thủy phân sau 4 giờ xử lý tốt hơn so thời điểm 1 giờ và 2 giờ. Đáng chú ý là tổ yến bị thủy phân nhiều nhất bằng dịch chiết đủ 20% trong 4 giờ so với những điều kiện còn lại ở 25°C, các protein có kích thước lớn hơn 200 kDa bị phân cắt gần như hoàn toàn thành những đoạn có kích thước nhỏ hơn (Hình 3.1A).

Khi nhiệt độ thủy phân được nâng lên 37°C, khả năng thủy phân tổ yến bởi các nồng độ dịch chiết đủ 20%, 10%, 5% và 2,5% đều tăng lên một cách đáng kể. Sự ảnh hưởng của yếu tố nồng độ và thời gian lên khả năng thủy phân protein tổ yến tương tự như ở điều kiện nhiệt độ 25°C. Tuy nhiên, hiệu quả thủy phân tổ yến bởi dịch chiết đủ với các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% ở các mốc thời gian 1 giờ và 2 giờ đều không có sự khác biệt đáng kể so với nhau. Trong điều kiện nhiệt độ 37°C, nghiệm thức tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đủ nồng độ 20% trong 4 giờ thể hiện khả năng thủy phân tốt nhất so với những nghiệm thức còn lại (Hình 3.1B).

Khi tăng nhiệt độ lên 60°C (Hình 3.1C), tổ yến bị thủy phân mạnh hơn so với nhiệt độ 25°C và 37°C. Sự sai khác được quan sát rõ nhất ở nồng độ dịch chiết đủ 10% và 5% với sự phân cắt gần như hoàn toàn các băng protein tổ yến có kích thước lớn hơn 200 kDa thành các đoạn nhỏ hơn. Trong khi đó ở các nhiệt độ 25°C và 37°C, vẫn còn một lượng lớn các protein này chưa được thủy phân. Ở điều kiện nhiệt độ 60°C, hiệu quả thủy phân tổ yến cũng phụ thuộc vào yếu tố nồng độ dịch chiết và thời gian xử lý tương tự như ở điều kiện nhiệt độ 37°C. Mặc dù nghiệm thức tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đủ nồng độ 20% trong 4 giờ vẫn thể hiện khả năng thủy phân tốt nhất so với những nghiệm thức còn lại, hai nghiệm thức tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đủ nồng độ 20% còn lại và nghiệm thức tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đủ nồng độ 10% trong 4 giờ đều thể hiện khả năng phân cắt gần như hoàn toàn các protein tổ yến có kích thước lớn đến rất lớn (Hình 3.1C).



Hình 3.1. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ ở các điều kiện nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian xử lý khác nhau. Tổ yến được xử lý với dịch chiết đu đủ ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% (khối lượng/thể tích) tại nhiệt độ 25°C (A), 37°C (B) và 60°C (C) trong thời gian 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ.

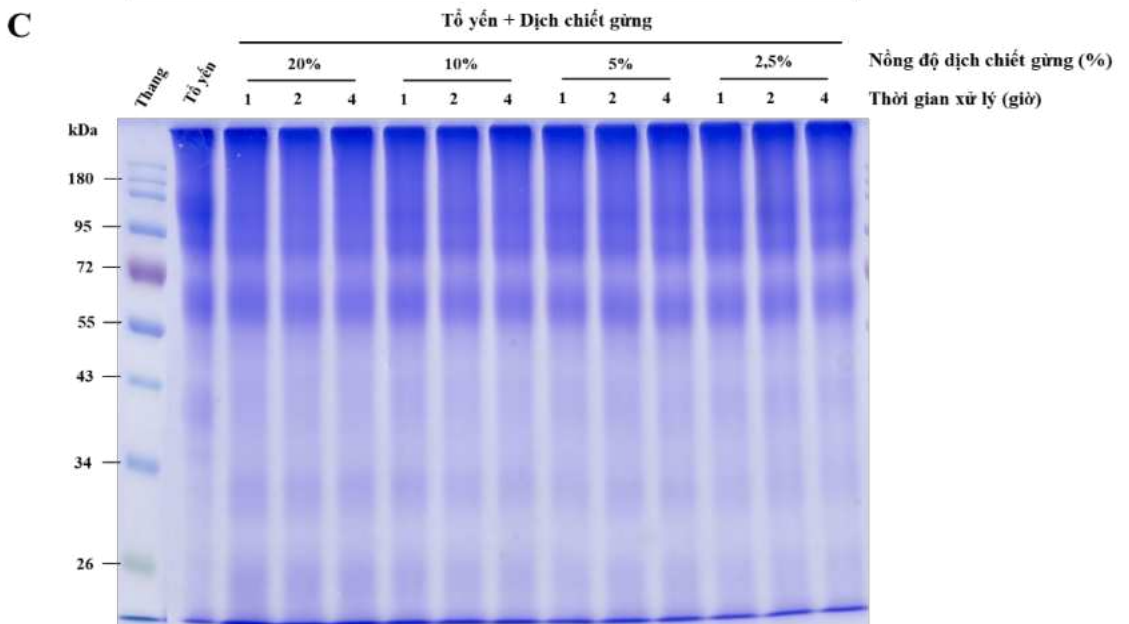
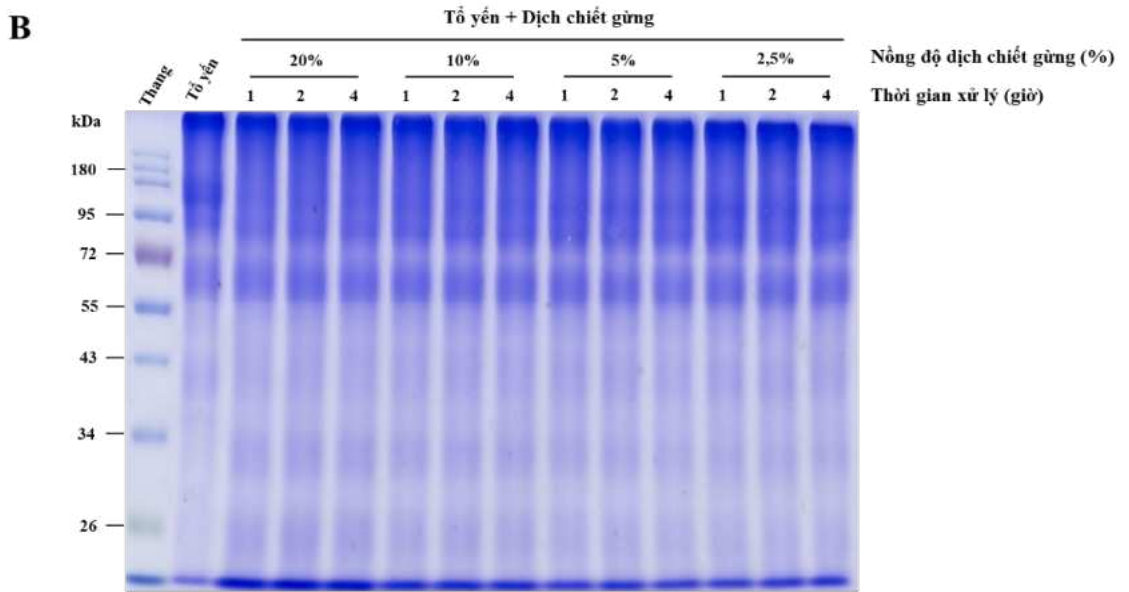
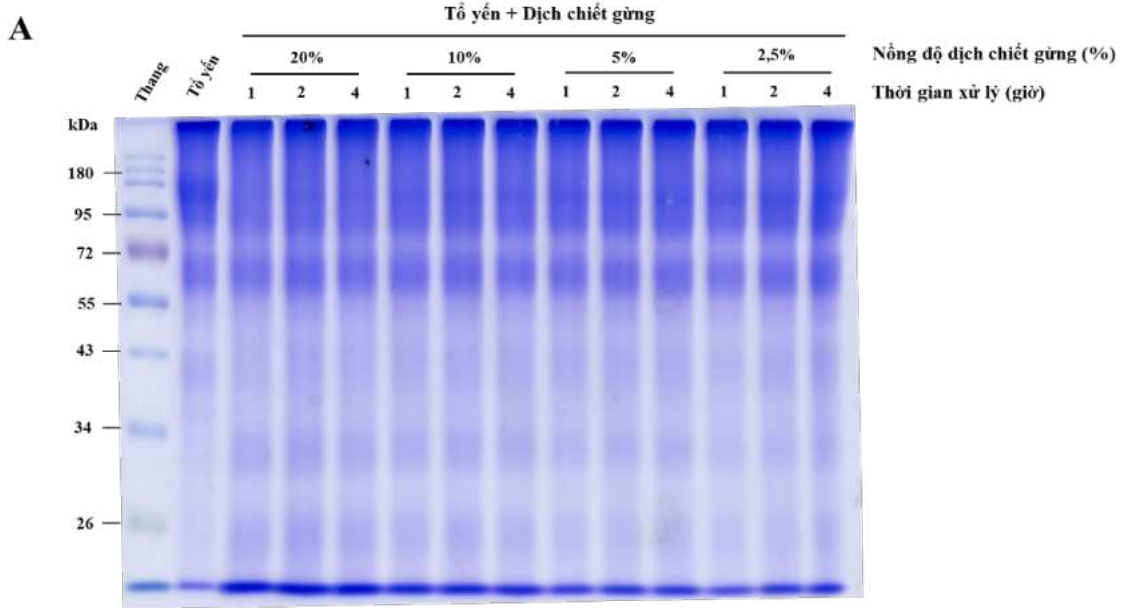
Các kết quả trên chứng tỏ các yếu tố nồng độ dịch chiết đu đủ, nhiệt độ và thời gian xử lý đều có ảnh hưởng lớn tới sự thủy phân tổ yến. Trong phạm vi thí nghiệm, mức độ thủy phân mạnh nhất đạt được ở điều kiện nồng độ dịch chiết đu đủ 20%, nhiệt độ 60°C và thời gian xử lý 4 giờ.

3.2.2. Kết quả khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở 25°C, dịch chiết gừng có khả năng phân cắt protein tổ yến có khối lượng trong khoảng 95-180 kDa trong khi đó khả năng thủy phân protein có khối lượng lớn hơn 200 kDa không đáng kể. Yếu tố nồng độ dịch chiết gừng được sử dụng không ảnh hưởng nhiều đến sự thủy phân tổ yến. Protein tổ yến bị phân cắt ở nồng độ 20% nhiều hơn ở các nồng độ còn lại, tuy nhiên sự khác biệt không quá lớn. Yếu tố thời gian trong phạm vi thí nghiệm hầu như không ảnh hưởng tới hiệu quả thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng (Hình 3.3A).

Khi nhiệt độ xử lý tăng lên 37°C (Hình 3.3B) và 60°C (Hình 3.3C), hiệu quả thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng ở tất cả nghiệm không sai khác nhiều so với điều kiện nhiệt độ 25°C (Hình 3.3A). Ảnh hưởng của yếu tố nồng độ dịch chiết sử dụng hay thời gian xử lý cũng tương tự như ở điều kiện nhiệt độ 25°C.

Các kết quả trên cho thấy khả năng thủy phân protein tổ yến của dịch chiết gừng không mạnh. Cả ba yếu tố nhiệt độ, thời gian xử lý và nồng độ dịch chiết sử dụng đều không tác động rõ ràng đến khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng.

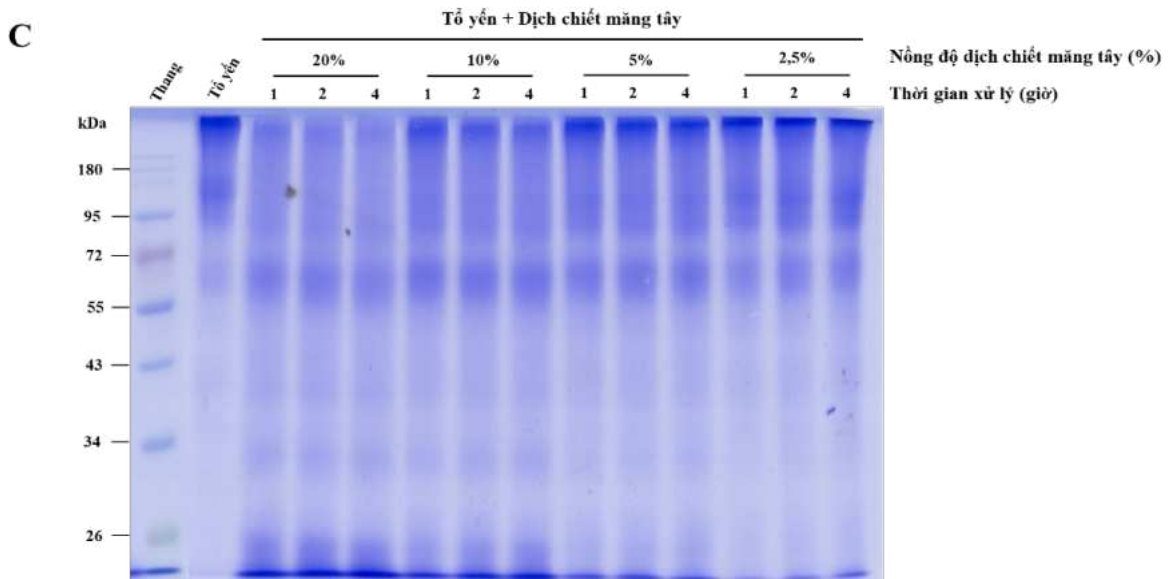
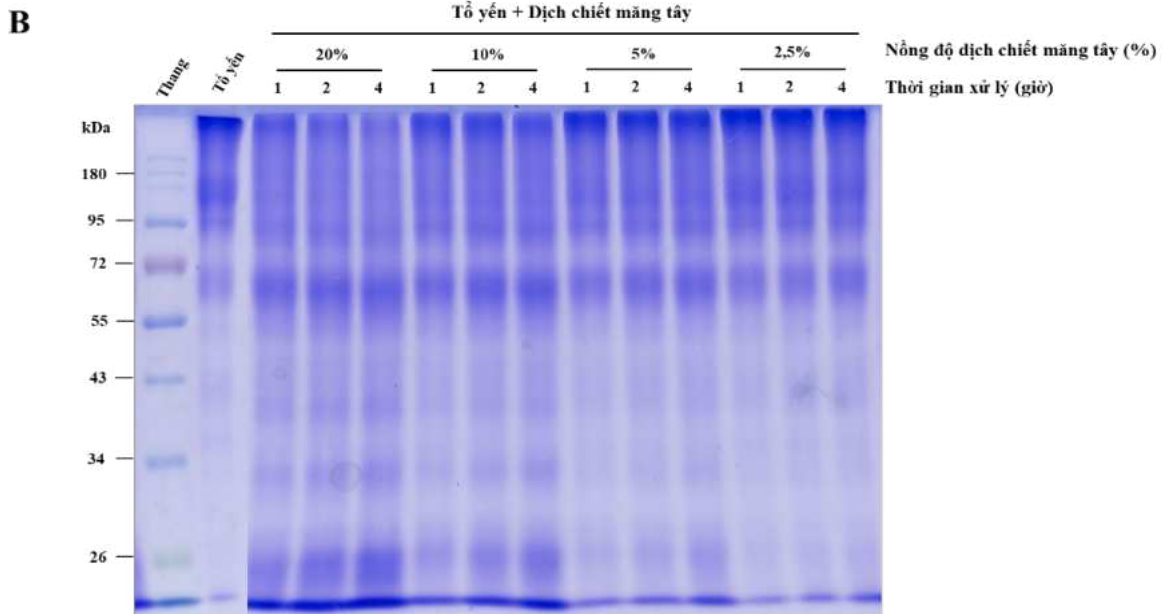
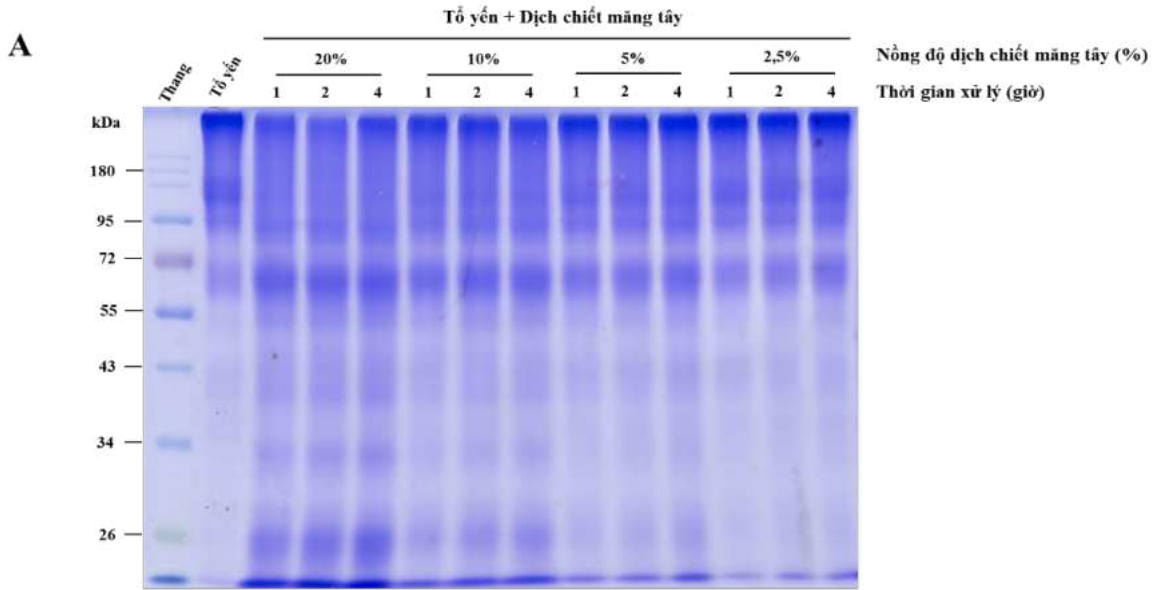


Hình 3.2. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng ở các điều kiện nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian xử lý khác nhau. Tổ yến được xử lý với dịch chiết gừng ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% (khối lượng/thể tích) tại nhiệt độ 25°C (A), 37°C (B) và 60°C (C) trong thời gian 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ.

3.2.3. Kết quả khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở 25°C, nồng độ dịch chiết măng tây được sử dụng có ảnh hưởng lên quá trình thủy phân tổ yến nhưng không quá rõ rệt. Sự phân cắt protein tổ yến có khối lượng nằm trong khoảng 95-180 kDa tăng khi nồng độ dịch chiết măng tây tăng. Tuy nhiên, một lượng lớn các băng protein tổ yến có khối lượng lớn hơn 200 kDa vẫn còn trên gel điện di ở các nghiệm thức với nồng độ dịch chiết măng tây 10%, 5% và 2,5%. Đặc biệt ở nồng độ dịch chiết măng tây 2,5%, các protein này gần như tương đương với tổ yến chưa thủy phân. Ở nồng độ dịch chiết măng tây 20%, sự phân cắt protein tổ yến có khối lượng hơn 200 kDa thành các đoạn nhỏ hơn thể hiện rõ ràng hơn. Bên cạnh đó, thời gian xử lý trong thử nghiệm gần như không tác động đáng kể đến hiệu suất thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây. Tại điều kiện nhiệt độ xử lý 25°C, dịch chiết măng tây nồng độ 20% thể hiện khả năng phân cắt protein tổ yến tốt nhất so với những nghiệm thức còn lại (Hình 3.2A).

Khi nhiệt độ xử lý tăng lên 37°C, sự phụ thuộc của khả năng thủy phân tổ yến vào nồng độ dịch chiết được cải thiện. Các nghiệm thức nồng độ dịch chiết măng tây 20% và 10% cho thấy các băng protein tổ yến có kích thước lớn hơn 200 kDa được phân cắt nhiều hơn so với cùng điều kiện nhiệt độ 37°C và thời gian ở nồng độ 5% và 2,5%. Ngoài ra, sự phân cắt protein ở các nghiệm thức này cũng tốt hơn so với cùng điều kiện nồng độ và thời gian với nhiệt độ xử lý 25°C, đặc biệt ở các nghiệm thức được xử lý trong 4 giờ. Yếu tố thời gian xử lý cũng có tác động đến hiệu quả thủy phân protein tổ yến của dịch chiết măng tây, mặc dù sự tác động này chỉ quan sát được ở các nghiệm thức tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây có nồng độ 20% và 10% được xử lý trong 4 giờ so với các mốc thời gian xử lý còn lại. Không có bất kỳ ghi nhận rõ ràng nào về sự ảnh hưởng của thời gian xử lý hay của nồng độ dịch chiết sử dụng của tổ yến được thủy phân bởi dịch chiết măng tây ở nồng độ 5% và 2,5%. Tại điều kiện nhiệt độ xử lý 37°C, dịch chiết măng tây nồng độ 20% thể hiện khả năng thủy phân tổ yến tốt nhất sau 4 giờ xử lý (Hình 3.2B).



Hình 3.3. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây ở các điều kiện nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian xử lý khác nhau. Tổ yến được xử lý với dịch chiết măng tây ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% (khối lượng/thể tích) tại nhiệt độ 25°C (A), 37°C (B) và 60°C (C) trong thời gian 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ.

Tương tự, khi nhiệt độ xử lý tăng lên đến 60°C, mức độ thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây ở nồng độ 20% và 10% tăng lên rõ ràng, trong khi khả năng thủy phân của dịch chiết măng tây ở các nồng độ 5% và 2,5% không có sự khác biệt đáng kể so với tổ yến bị thủy phân ở cùng điều kiện nồng độ và thời gian với nhiệt độ xử lý 25°C và 37°C. Ở trường hợp tổ yến thủy phân bởi dịch chiết măng tây nồng độ 20%, các băng protein tổ yến kích thước lớn hơn 200 kDa đã bị phân cắt rất nhiều, trong khi ở trường hợp tổ yến thủy phân bởi dịch chiết măng tây 10% cũng thể hiện khả năng phân cắt được các băng protein này nhưng kém hơn. Hai nồng độ còn lại của dịch chiết măng tây (5% và 2,5%) thể hiện khả năng phân cắt protein tổ yến rất kém và gần như tương đương nhau. Bên cạnh đó, yếu tố thời gian có tác động rất ít đến hiệu quả thủy phân và chỉ quan sát được trên trường hợp tổ yến thủy phân bởi nồng độ dịch chiết măng tây 10%, tuy nhiên sự khác biệt không quá lớn giữa các thời điểm xử lý (Hình 3.2C).

Các kết quả trên chứng tỏ yếu tố nhiệt độ xử lý và nồng độ dịch chiết sử dụng ảnh hưởng đến khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây trong khi yếu tố thời gian xử lý tác động không đáng kể. Trong phạm vi thí nghiệm, nhiệt độ xử lý ở mức 60°C cùng với nồng độ dịch chiết măng tây sử dụng ở mức 20% cho kết quả thủy phân tổ yến tốt nhất.

Protease có nguồn gốc từ thực vật có nhiều đặc điểm ưu việt như hoạt tính thủy phân cao và ái lực với các cơ chất cụ thể, tính ổn định ấn tượng trong một khoảng điều kiện hoạt động rộng (pH 4-10 và nhiệt độ lên đến 60°C). Những loại protease phong phú nhất ở thực vật chủ yếu thuộc nhóm cystein protease, theo sau là serine protease và aspartic protease. Các cystein protease có khoảng nhiệt độ hoạt động rất rộng, một số loại cystein được thương mại như papain có nhiệt độ hoạt động tối ưu là 65°C, bromelain là 70°C và ficin là 60°C. Serine protease có mức nhiệt độ hoạt động tối ưu lên đến 50°C và hầu hết aspartic protease hoạt động tối ưu ở 55°C [108]. Khả năng thủy phân protein tổ yến của các loại dịch chiết được đánh giá ở nhiệt độ tối ưu hoặc gần tối ưu đối với hầu hết các protease (khoảng 60°C). Ngoài ra các mức nhiệt độ 25°C và 37°C cũng được sử dụng trong thí nghiệm vì hai nhiệt độ này phù hợp với điều kiện sản xuất tự nhiên và điều kiện nhiệt độ tự nhiên của cơ thể người. Các khoảng thời gian thủy phân được chọn dựa theo các báo cáo

của Babji (2018) và Nurfatim (2016) về hiệu suất thủy phân tối ưu, hoạt tính kháng oxy hoá và chống cao huyết áp tối ưu của sản phẩm tổ yến thủy phân nằm trong khoảng từ 1,5 đến 2 giờ [14] [94].

Cả ba dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đều thể hiện được khả năng thủy phân protein tổ yến với các mức độ khác nhau, phù hợp với hoạt tính protease tổng được khảo sát ở Nội dung 3.1. Dịch chiết đu đủ có hoạt tính protease cao nhất trong cả ba loại dịch chiết được khảo sát thể hiện khả năng thủy phân protein tổ yến mạnh nhất. Dịch chiết măng tây có lượng hoạt tính và khả năng phân cắt protein tổ yến kém hơn dịch chiết đu đủ. Dịch chiết gừng với lượng hoạt tính protease thấp nhất tương ứng với khả năng thủy phân protein tổ yến kém nhất so với hai loại dịch chiết còn lại.

Kết quả thủy phân protein tổ yến bằng dịch chiết đu đủ trong đề tài này cũng tương tự như kết quả mà Zulkifli và cộng sự (2019) đã báo cáo trước đây. Trong nghiên cứu của Zulkifli và cộng sự (2019), dịch chiết đu đủ 30% (khối lượng/thể tích) được sử dụng. Kết quả của thử nghiệm cho thấy khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ phụ thuộc vào thời gian, hiệu quả thủy phân tăng từ 2,9% (0,5 giờ) lên 16,3% (3 giờ) [93]. Zulkifli và cộng sự (2019) cũng sử dụng 2 loại enzyme tinh chế là alcalase (1%, v/v, thể tích/thể tích) và papain ((1%, m/v, khối lượng/thể tích). Đối với papain, mức độ thủy phân tăng thấp hơn so với dịch chiết đu đủ, 5,8% (0,5 giờ) tăng đến 14,3% (3 giờ). Alcalase có khả năng thủy phân tổ yến mạnh và ít phụ thuộc vào thời gian, hiệu quả thủy phân đạt khoảng 11,6% (0,5 giờ) và tăng lên 16,2% (3 giờ). Điều này cho thấy dịch chiết đu đủ hoàn toàn có khả năng thay thế các loại enzyme tinh chế trong việc thủy phân protein tổ yến, tuy nhiên thời gian thủy phân cần được thiết kế để đạt khả năng thủy phân tối ưu.

3.3. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HOÁ CỦA CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP

Quá trình thủy phân protein nhờ enzyme có thể giúp giải phóng các peptide có hoạt tính sinh học nằm trong cấu trúc của những đại phân tử protein không có hoạt tính sinh học, qua đó giúp sản phẩm thủy phân tăng cường hoạt tính sinh học [109]. Khả năng kháng oxy hoá của tổ yến không chỉ là tính chất mà người tiêu dùng mong muốn mà còn là mối quan tâm của nhiều nhà khoa học [7]. Do đó, việc đánh giá tác động của các loại dịch chiết thực vật lên khả năng kháng oxy hoá của tổ yến sau khi bị thủy phân có ý nghĩa ứng dụng quan trọng.

Từ các kết quả thu được của thử nghiệm khảo sát khả năng thủy phân tổ yến, điều kiện thủy phân tổ yến tốt nhất trong phạm vi thí nghiệm của dịch chiết đu đủ và dịch chiết măng tây ở nhiệt độ 60°C và thời gian xử lý 4 giờ. Riêng dịch chiết gừng, điều kiện thủy phân tổ yến của đối tượng này gần như nhau trong mọi điều kiện bố trí thí nghiệm. Để đồng nhất điều kiện khảo sát giữa các đối tượng dịch chiết cần kiểm tra, điều kiện được chọn cho thử nghiệm kháng oxy hoá là những sản phẩm tổ yến thủy phân bởi các loại dịch chiết ở các nồng độ khác nhau (20%, 10%, 5 và 2,5%), nhiệt độ xử lý 60°C và thời gian xử lý 4 giờ.

Kết quả kiểm tra khả năng kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ và dịch chiết gừng cho thấy sản phẩm tổ yến sau thủy phân thể hiện khả năng kháng oxy hoá được tăng cường có ý nghĩa thống kê so với của tổ yến chưa thủy phân ở các nồng độ dịch chiết kiểm tra (Bảng 3.2 và Bảng 3.3). Ngược lại, khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến sau thủy phân bằng dịch chiết măng tây không khác biệt so với tổ yến chưa thủy phân ở tất cả nồng độ dịch chiết kiểm tra (Bảng 3.4). Kết quả thử nghiệm cho thấy dịch chiết đu đủ và dịch chiết gừng có tiềm năng ứng dụng trong việc tạo sản phẩm tổ yến thủy phân có hoạt tính kháng oxy hoá cao.

Bảng 3.2. Hiệu quả kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ.

Khả năng kháng oxy hoá (%)	Nồng độ dịch chiết đu đủ			
	20%	10%	5%	2,5%
Tổ yến	6,58 ± 3,66	13,20 ± 0,09	30,05 ± 1,76	44,97 ± 1,04
Tổ yến thủy phân	23,49 ± 3,25 **	22,77 ± 3,11 *	37,81 ± 1,70 **	51,24 ± 0,93 ***

Tổ yến được xử lý với dịch chiết đu đủ ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả kháng oxy hoá được tính bằng tỉ lệ phần trăm trung hoà gốc tự do ABTS^{•+} của các mẫu thử nghiệm sau khi được trừ đi hoạt tính của riêng dịch chiết đu đủ có trong mẫu thử nghiệm và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sự khác biệt thống kê giữa các mẫu tổ yến và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ có cùng nồng độ

được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*; $p \leq 0,01$:**; $p \leq 0,001$:***; $p > 0,05$: ns.

Bảng 3.3. Hiệu quả kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thuỷ phân bằng dịch chiết gừng.

Khả năng kháng oxy hoá (%)	Nồng độ dịch chiết gừng			
	20%	10%	5%	2,5%
Tổ yến	12,57 ± 3,01	19,47 ± 2,77	33,40 ± 1,68	49,98 ± 0,14
Tổ yến thuỷ phân	21,68 ± 3,95 *	25,74 ± 1,33 *	41,41 ± 0,83 **	61,20 ± 1,64 **

Tổ yến được xử lý với dịch chiết gừng ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả kháng oxy hoá được tính bằng tỉ lệ phần trăm trung hoà gốc tự do ABTS^{•+} của các mẫu thử nghiệm sau khi được trừ đi hoạt tính của riêng dịch chiết gừng có trong mẫu thử nghiệm và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sự khác biệt thống kê giữa các mẫu tổ yến và tổ yến thuỷ phân bằng dịch chiết gừng có cùng nồng độ được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*; $p \leq 0,01$:**; $p \leq 0,001$:***; $p > 0,05$: ns.

Bảng 3.4. Hiệu quả kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thuỷ phân bằng dịch chiết măng tây.

Khả năng kháng oxy hoá (%)	Nồng độ dịch chiết măng tây			
	20%	10%	5%	2,5%
Tổ yến	10,83 ± 2,43	20,71 ± 1,90	37,66 ± 4,11	59,70 ± 4,13
Tổ yến thuỷ phân	15,86 ± 4,14 ^{ns}	23,43 ± 6,73 ^{ns}	43,19 ± 1,48 ^{ns}	59,08 ± 3,06 ^{ns}

Tổ yến được xử lý với dịch chiết măng tây ở các nồng độ 20%, 10%, 5% và 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả kháng oxy hoá được tính bằng tỉ lệ phần trăm

trung hoà gốc tự do ABTS^{•+} của các mẫu thử nghiệm sau khi được trừ đi hoạt tính của riêng dịch chiết măng tây có trong mẫu thử nghiệm và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sự khác biệt thống kê giữa các mẫu tổ yến và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây có cùng nồng độ được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*; $p \leq 0,01$:**;
 $p \leq 0,001$:***; $p > 0,05$: ns.

Sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ thể hiện khả năng kháng oxy hoá cao hơn tổ yến chưa thủy phân và tốt nhất trong ba đối tượng nghiên cứu. Khả năng thủy phân tốt protein tổ yến của dịch chiết đu đủ có thể là nguyên nhân dẫn đến hoạt tính kháng oxy hoá cao của sản phẩm tổ yến thủy phân. Dịch chiết đu đủ có thể đã phân cắt các liên kết phân tử hình thành cấu trúc không gian, do đó phá vỡ cấu trúc không gian của các protein tổ yến. Điều này khiến cho các vị trí amino acid có khả năng kháng oxy hoá như histidine, methionine, tryptophan, tyrosine, cysteine, lysine và arginine nằm ẩn trong cấu trúc không gian được lộ ra [110]. Trong số các enzyme của dịch quả đu đủ, papain có thể tạo ra sản phẩm tổ yến thủy phân với khả năng kháng oxy hoá được tăng cường so với tổ yến chưa thủy phân mặc dù khả năng phân cắt liên kết peptide của papain tương đối đặc hiệu và chủ yếu tác động đến những vị trí gần leucine và glycine là những amino acid có khả năng kháng oxy hoá yếu [93] [110] [111]. Điều này có thể do cấu trúc phân tử protein tổ yến có nhiều vị trí tại đó leucine và glycine liên kết với các amino acid có khả năng kháng oxy hoá cao. Do đó, việc dùng papain để thủy phân tổ yến vẫn tạo ra lượng lớn các peptide có khả năng kháng oxy hoá cao.

Mặc dù khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết gừng trong thí nghiệm rất kém nhưng sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng lại thể hiện khả năng kháng oxy hoá rất ấn tượng. Hiệu quả kháng oxy hoá được tăng cường của tổ yến sau khi thủy phân với dịch chiết gừng gần tương đương như khi dùng dịch chiết đu đủ. Nguyên nhân của hiện tượng này có thể do vị trí cắt đặc hiệu của các protease trong dịch chiết gừng chủ yếu tác động đến các amino acid có khả năng kháng oxy hoá cao. Do đó, dù hiệu suất thủy phân kém nhưng các peptide được tạo thành sau thủy phân đều có khả năng kháng oxy hoá, dẫn đến hiệu suất kháng oxy hoá tổng thể của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết gừng được tăng cường.

Sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây có khả năng kháng oxy hoá không khác biệt so với tổ yến chưa thủy phân. Kết quả đánh giá khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây cho thấy khả năng phân cắt protein tổ yến của dịch chiết măng tây không quá tốt. Ở nghiệm thức có kết quả thủy phân tốt nhất với

nồng độ dịch chiết mĂNG tây 20%, nhiệt độ xử lý ở 60°C và thời gian xử lý 4 giờ, các băng protein có kích thước lớn vẫn còn hiện diện trong tổ yến sau thủy phân. Vì vậy, nhiều phân tử protein kích thước lớn với cấu trúc không gian phức tạp vẫn duy trì trạng thái sau thủy phân và số lượng các amino acid có khả năng kháng oxy hoá bị ẩn trong cấu trúc không gian chưa được giải phóng ra nhiều. Một nguyên nhân khác có thể là do các protease trong dịch chiết mĂNG tây có trình tự cắt đặc hiệu không tác động nhiều đến các vị trí có khả năng giải phóng các amino acid kháng oxy hoá trong protein tổ yến.

Babji và cộng sự (2018) đã báo cáo tyrosine và phenylalanine đóng vai trò quan trọng đối với khả năng kháng oxy hoá của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng alcalase [14]. Các cấu trúc vòng indol và benzen trong những amino acid này có thể cung cấp proton cho các gốc tự do thiếu electron, do đó giúp những phân tử oxy hoạt tính (Reactive Oxygen Species, ROS) được cân bằng [112]. Thông qua nghiên cứu đánh giá khả năng kháng oxy hoá của 20 loại amino acid, Xu (2017) đã phân chia các amino acid thành hai nhóm. Nhóm kháng oxy hoá mạnh bao gồm tryptophan, methionine, histidine, lysine, cysteine, arginine và tyrosine, trong khi 13 amino acid còn lại với khả năng kháng oxy yếu hoặc không có khả năng kháng oxy hoá [110]. Những phát hiện này đã cho thấy sự thủy phân protein tổ yến có thể tạo ra thêm các cơ chất cho electron có khả năng trung hoà các gốc tự do, cụ thể là các amino acid có khả năng kháng oxy hoá nằm ẩn trong cấu trúc của các đại phân tử protein tổ yến. Trong nghiên cứu của Zulkifli và cộng sự (2019), khả năng kháng oxy hoá của tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ cũng thể hiện mức tăng cường đáng kể so với tổ yến chưa thủy phân và có thể đạt mức tối đa chỉ sau 1 giờ xử lý, tương tự với tổ yến thủy phân bằng enzyme papain. Trong khi đó, khả năng kháng oxy hoá của tổ yến thủy phân bởi enzyme alcalase cần 3 giờ xử lý để tối ưu hoá khả năng kháng oxy hoá [93]. Điều này cho thấy các nguồn enzyme khác nhau sẽ tạo ra sản phẩm tổ yến thủy phân có các đặc điểm kháng oxy hoá khác nhau và phù hợp với các kết quả đạt được trong nghiên cứu này.

3.4. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG ỨC CHẾ ENZYME TYROSINASE CỦA CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP

Bên cạnh vai trò là chất chống oxy hoá, khả năng ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase còn giúp nâng cao tính ứng dụng của tổ yến trong các sản phẩm chống lão hoá và làm trắng da. Các nghiên cứu trước đây cho thấy tổ yến sau khi bị thủy phân có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase được tăng cường đáng kể [79]. Vì vậy,

việc đánh giá khả năng ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase của các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây sẽ giúp xác định tiềm năng ứng dụng của chúng trong lĩnh vực chăm sóc sắc đẹp.

Kết quả thí nghiệm cho thấy hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ cao hơn so với của tổ yến chưa thủy phân. Hầu hết kết quả ghi nhận sự tăng cường hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ đều có ý nghĩa thống kê, riêng trường hợp sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5%, mức tăng không mang ý nghĩa thống kê (Bảng 3.5). Điều này có thể do mức độ thủy phân tổ yến kém tại nồng độ dịch chiết đu đủ 2,5% nên sản phẩm thủy phân có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase không cao. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây ở tất cả điều kiện nồng độ được kiểm tra đều cao hơn so với tổ yến chưa thủy phân có nồng độ tương ứng. Tất cả số liệu ghi nhận đều thể hiện sự tăng cường hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase có ý nghĩa thống kê của sản phẩm tổ yến sau thủy phân với dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây (Bảng 3.6 và Bảng 3.7).

Bảng 3.5. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ.

Khả năng ức chế enzyme tyrosinase (%)	Nồng độ dịch chiết đu đủ			
	20%	10%	5%	2,5%
Tổ yến	9,70 ± 0,67	7,38 ± 0,46	6,86 ± 0,69	6,07 ± 1,77
Tổ yến thủy phân	16,65 ± 1,28 **	13,77 ± 0,76 ***	11,78 ± 0,84 ***	9,67 ± 5,48 ns

Tổ yến được xử lý với dịch chiết đu đủ ở các nồng độ 20%; 10%; 5% và 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả thể hiện được tính bằng tỉ lệ phần trăm ức chế hoạt động chuyển hoá tyrosine của enzyme tyrosinase trong các mẫu thử nghiệm sau khi được trừ đi hoạt tính của riêng dịch chiết đu đủ có trong các mẫu và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sai khác thống kê giữa các mẫu tổ yến và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ có cùng nồng độ được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*; $p \leq 0,01$:**; $p \leq 0,001$:***; $p > 0,05$: ns.

Bảng 3.6. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng.

Khả năng ức chế enzyme tyrosinase (%)	Nồng độ dịch chiết gừng			
	20%	10%	5%	2,5%
Tổ yến	9,70 ± 0,67	7,38 ± 0,46	6,86 ± 0,69	6,07 ± 1,77
Tổ yến thủy phân	64,54 ± 0,85 ***	55,30 ± 3,85 ***	50,81 ± 2,91 ***	38,24 ± 4,46 **

Tổ yến được xử lý với dịch chiết gừng ở các nồng độ 20%; 10%; 5% và 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả thể hiện được tính bằng tỉ lệ phần trăm ức chế hoạt động chuyển hoá tyrosine của enzyme tyrosinase trong các mẫu thử nghiệm sau khi được trừ đi hoạt tính của riêng dịch chiết gừng có trong các mẫu và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sai khác thống kê giữa các mẫu tổ yến và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng có cùng nồng độ được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*; $p \leq 0,01$:**; $p \leq 0,001$:***; $p > 0,05$: ns.

Bảng 3.7. Hiệu quả ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây.

Khả năng ức chế enzyme tyrosinase (%)	Nồng độ dịch chiết măng tây			
	20%	10%	5%	2,5%
Tổ yến	9,70 ± 0,67	7,38 ± 0,46	6,86 ± 0,69	6,07 ± 1,77
Tổ yến thủy phân	53,49 ± 4,97 **	37,38 ± 4,21 **	28,81 ± 3,91 **	18,49 ± 4,66 *

Tổ yến được xử lý với dịch chiết măng tây ở các nồng độ 20%; 10%; 5% và 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả thể hiện được tính bằng tỉ lệ phần trăm ức chế hoạt động chuyển hoá tyrosine của enzyme tyrosinase trong các mẫu thử nghiệm sau khi được trừ đi hoạt tính của riêng dịch chiết măng tây có trong các mẫu và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm

độc lập. Sai khác thống kê giữa các mẫu tổ yến và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây có cùng nồng độ được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*; $p \leq 0,01$:**; $p \leq 0,001$:***; $p > 0,05$: ns.

Kết quả đạt được trong thử nghiệm kiểm tra khả năng ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase của các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây phù hợp với báo cáo của Fan và cộng sự (2021). Hiệu quả ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân trong môi trường tiêu hoá mô phỏng của dạ dày và ruột non bởi các enzyme tiêu hoá như pepsin và pancreatin được kiểm tra trên mô hình tế bào HepG2 và B16 lớn hơn đáng kể so với tổ yến chưa thủy phân [79]. Kết quả của thử nghiệm cũng cho thấy đu đủ, gừng và măng tây đều là các đối tượng tiềm năng dùng để tạo sản phẩm thủy phân của tổ yến với hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase cao có tính ứng dụng trong việc tạo ra các chế phẩm kem bôi da hay thực phẩm chức năng có tác dụng chăm sóc và làm trắng da.

Nguyên nhân của sự tăng cường hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các sản phẩm tổ yến thủy phân so với tổ yến chưa thủy phân có thể do các sản phẩm thủy phân được tạo ra trở thành cơ chất cạnh tranh enzyme tyrosinase với tyrosine hoặc liên kết với enzyme tyrosinase và làm thay đổi cấu trúc không gian và hoạt tính của enzyme tyrosinase.

Bên cạnh đó, Fan và cộng sự (2021) đã nghiên cứu về khả năng ức chế hoạt động của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng enzyme pepsin và trypsin và đưa ra kết luận thành phần chính gây ức chế enzyme tyrosinase là các acid sialic tự do. Khả năng ức chế enzyme tyrosinase của thành phần acid sialic tự do cao hơn đáng kể so với acid sialic còn liên kết trong chuỗi đường [79].

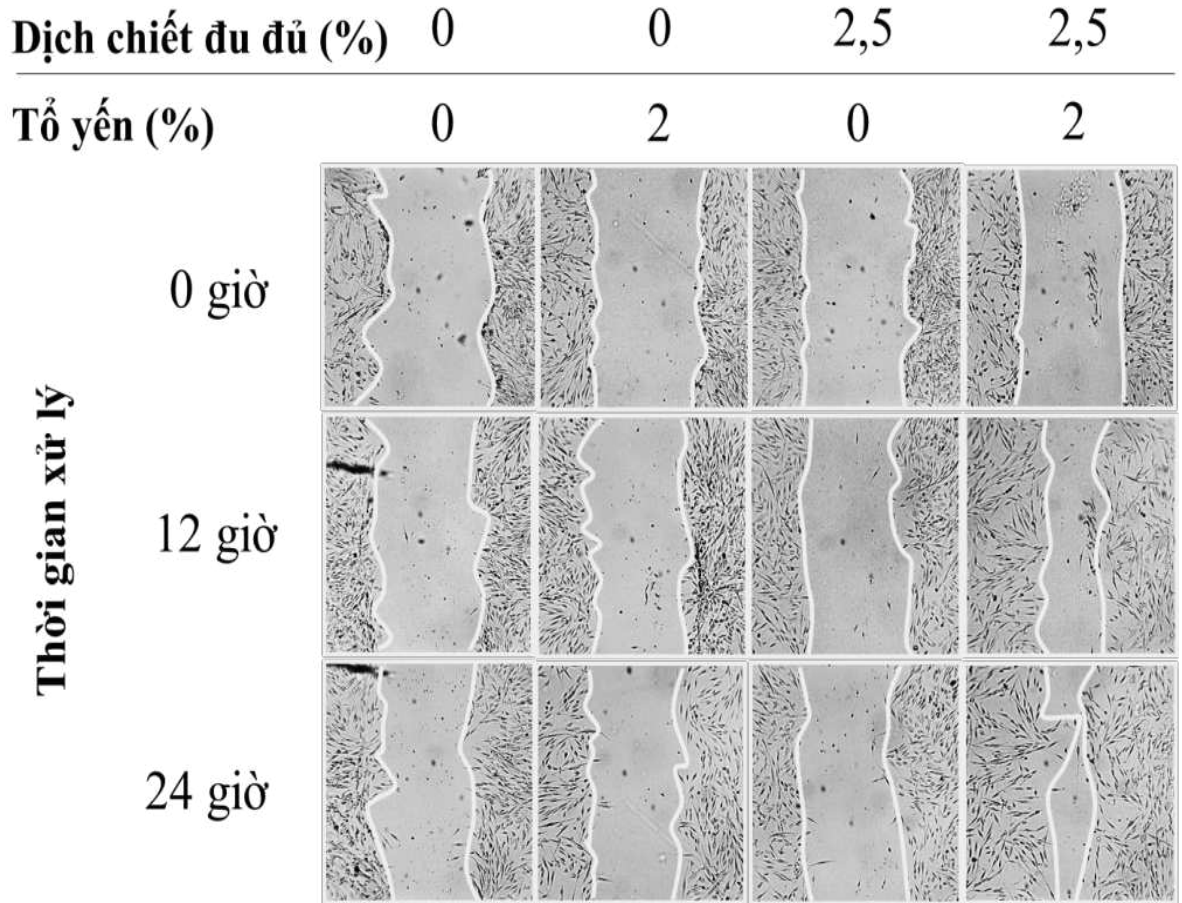
Trong một nghiên cứu khác, Wong và cộng sự (2018) đã báo cáo khả năng ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm thủy phân tổ yến đỏ thấp hơn so với sản phẩm thủy phân tổ yến trắng và tổ yến vàng ở điều kiện môi trường tiêu hoá mô phỏng trong dạ dày và ruột non với cùng khoảng thời gian thủy phân. Kết quả này tương ứng với khả năng chống lại tác động của quá trình chung bằng nước hay thủy phân bằng enzyme của tổ yến đỏ tốt hơn nhờ vào đặc điểm cấu tạo của tổ yến đỏ. Tuy nhiên, khả năng ức chế enzyme tyrosinase của cả ba loại tổ yến (trắng, vàng, đỏ) gần như tương đương nhau sau khi được thủy phân hoàn toàn và giải phóng toàn bộ acid sialic thành dạng tự do [82].

Điều này cho thấy acid sialic đóng vai trò cốt lõi trong hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của tổ yến. Cần có những đánh giá cụ thể hơn với ở những thí nghiệm tiếp theo nhằm làm sáng tỏ những cơ chế sinh hoá của phản ứng.

3.5. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG LÀM LÀNH VẾT THƯƠNG *IN VITRO* CỦA CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP

Các công trình nghiên cứu trước đây đã chứng minh khả năng chữa lành vết thương của peptide [113]. Sản phẩm thủy phân tổ yến bằng các loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây chứa các peptide nên có thể có tiềm năng hỗ trợ quá trình làm lành vết thương. Do đó, nghiên cứu thực hiện đánh giá khả năng làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân trên mô hình nguyên bào sợi người. Trong quá trình thí nghiệm, dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây được sử dụng ở nồng độ cao gây ức chế sự phát triển của tế bào nguyên bào sợi, vậy nên các nồng độ dịch chiết 2,5% sẽ được sử dụng để đánh giá khả năng làm lành vết thương *in vitro* trên mô hình nguyên bào sợi người.

Trên mô hình nguyên bào sợi người, ở mẫu đối chứng nước, vết thương tự thu hẹp khoảng 5-8% và 15-18% sau 12 giờ và 24 giờ xử lý. Sự thu hẹp vết thương ở mẫu đối chứng nước có thể do khả năng tăng sinh tự thân của các tế bào nguyên bào sợi. Trong khi đó, sau 24 giờ, sự thu hẹp vết thương ở mẫu xử lý bằng tổ yến (nồng độ 2%) khoảng 27%-33%, ở mẫu xử lý bằng dịch chiết đu đủ (nồng độ 2,5%) khoảng 24%, ở mẫu xử lý bằng dịch chiết gừng (nồng độ 2,5%) khoảng 25%, ở mẫu xử lý bằng dịch chiết măng tây (nồng độ 2,5%) khoảng 33%. Kết quả này cho thấy, tổ yến, dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây ở nồng độ thử nghiệm có khả năng làm lành vết thương nhưng không mạnh trên mô hình nguyên bào sợi. Ngược lại, khi bổ sung tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây nồng độ 2,5% vào môi trường, độ rộng của vết thương thu hẹp lại rất nhiều sau 12 giờ (khoảng 40-52%) và vết thương gần như liền lại sau 24 giờ (khoảng 70-77%) (Hình 3.4, Hình 3.5, Hình 3.6, Bảng 3.8, Bảng 3.9 và Bảng 3.10). Như vậy, khả năng làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi của tổ yến được tăng cường khi tổ yến được thủy phân bằng các dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây ở nồng độ 2,5%.



Hình 3.4. Hình ảnh thể hiện hiệu quả làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến, dịch chiết đu đủ và sản phẩm thủy phân tổ yến bằng dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5%.

Bảng 3.8. Tỷ lệ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5%.

Thời gian (giờ)	Tỷ lệ khép vết thương (%)			
	Nước	Tổ yến	Dịch chiết đu đủ 2,5%	Tổ yến thủy phân
12	8,55 ± 3,10	14,75 ± 0,19 *	12,50 ± 2,25 ^{ns}	52,23 ± 1,85 ***
24	17,92 ± 1,39	26,63 ± 1,52 ***	23,72 ± 3,50 *	76,92 ± 1,12 ***

Khả năng làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi được kiểm tra đối với nước (đối chứng âm), tổ yến nồng độ 2%, dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5% và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả thể hiện được tính theo tỉ lệ phần trăm độ khép vết thương trên mô hình nguyên bào sợi của các mẫu kiểm tra và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sai khác thống kê giữa đối chứng âm với các mẫu tổ yến, dịch chiết đu đủ và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*, $p \leq 0,01$:**, $p \leq 0,001$:***, $p > 0,05$: ns.

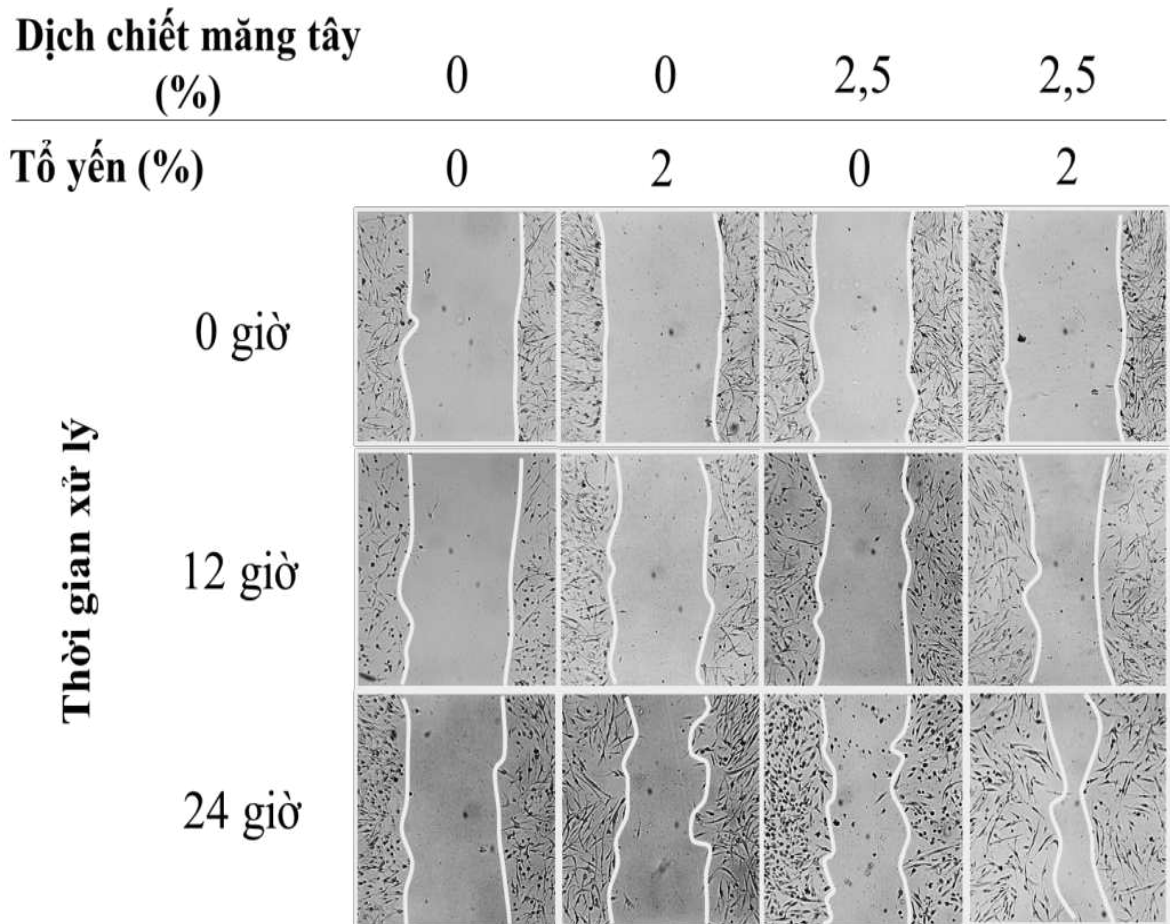
Dịch chiết gừng (%)		0	0	2,5	2,5	
Tổ yến (%)		0	2	0	2	
Thời gian xử lý	0 giờ					
	12 giờ					
	24 giờ					

Hình 3.5. Hình ảnh thể hiện hiệu quả làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến, dịch chiết gừng và sản phẩm thủy phân tổ yến bằng dịch chiết gừng nồng độ 2,5%.

Bảng 3.9. Tỷ lệ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân dịch chiết gừng nồng độ 2,5%.

Thời gian (giờ)	Tỷ lệ khép vết thương (%)			
	Nước	Tổ yến	Dịch chiết gừng 2,5%	Tổ yến thủy phân
12	8,44 ± 2,99	13,32 ± 1,00 *	5,15 ± 2,84 ^{ns}	52,62 ± 3,37 ***
24	16,89 ± 1,30	28,05 ± 1,04 ***	25,26 ± 1,79 **	71,81 ± 2,26 ***

Khả năng làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi được kiểm tra đối với nước (đối chứng âm), tổ yến nồng độ 2%, dịch chiết gừng nồng độ 2,5% và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng nồng độ 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả thể hiện được tính theo tỉ lệ phần trăm độ khép vết thương trên mô hình nguyên bào sợi của các mẫu kiểm tra và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sai khác thống kê giữa đối chứng âm với các mẫu tổ yến, dịch chiết gừng và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*, $p \leq 0,01$:**, $p \leq 0,001$:***, $p > 0,05$: ns.



Hình 3.6. Hình ảnh thể hiện hiệu quả làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến, dịch chiết măng tây và sản phẩm thủy phân tổ yến bằng dịch chiết măng tây nồng độ 2,5%.

Bảng 3.10. Tỷ lệ làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân dịch chiết măng tây nồng độ 2,5%.

Thời gian (giờ)	Tỷ lệ khép vết thương (%)			
	Nước	Tổ yến	Dịch chiết măng tây 2,5%	Tổ yến + Dịch chiết măng tây 2,5%
12	4,59 ± 2,04	21,11 ± 2,03 ***	15,19 ± 1,13 **	39,73 ± 1,34 ***
24	15,60 ± 1,86	33,35 ± 1,71 ***	32,19 ± 5,72 *	69,76 ± 1,16 ***

Khả năng làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi được kiểm tra đối với nước (đối chứng âm), tổ yến nồng độ 2%, dịch chiết măng tây nồng độ 2,5% và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây nồng độ 2,5% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Kết quả thể hiện được tính theo tỉ lệ phần trăm độ khép vết thương trên mô hình nguyên bào sợi của các mẫu kiểm tra và được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm độc lập. Sai khác thống kê giữa đối chứng âm với các mẫu tổ yến, dịch chiết măng tây và tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây được kiểm tra bằng phép thử t-test, trong đó: $p \leq 0,05$:*, $p \leq 0,01$:**, $p \leq 0,001$:***, $p > 0,05$: ns.

Sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây đều có khả năng làm lành vết thương trên nguyên bào sợi tương tự như dịch thủy phân collagen bằng enzyme đã được công bố trong các nghiên cứu trước đây. Lalita và cộng sự (2021) đã xác định sản phẩm thủy phân collagen từ da cá mú tách béo bằng các enzyme papain và alcalase chứa hàm lượng lớn các amino acid kị nước có khả năng thúc đẩy tế bào nguyên bào sợi tăng sinh như glycine (Gly), alanine (Ala), proline (Pro) và hydroxyproline (Hyp) [114] [115]. Trong một nghiên cứu khác, Futama và cộng sự (2019) đã dùng peptide thu nhận từ quá trình thủy phân collagen của sứa *Rhopilema esculentum* bằng enzyme collagenase II, papain và alkaline proteinase để chữa lành vết thương trên mô hình *in vitro* với tế bào nội mô tĩnh mạch rốn và trên mô hình chuột [116].

Nhìn chung, quá trình chữa lành vết thương ở sinh vật sống chia thành ba giai đoạn chính là viêm, tăng sinh và tái tạo. Khả năng làm lành vết thương của các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây có thể do các sản phẩm tổ yến thủy phân này chứa peptide có hoạt tính làm lành vết thương. Nghiên cứu trước đây trên peptide tách từ protein đậu nành và protein đậu ngự cho thấy peptide điều hoà phản ứng viêm và cung cấp dinh dưỡng cần thiết cho quá trình tăng sinh tế bào, qua đó giúp tăng cường hiệu quả quá trình chữa lành vết thương [117]. Các peptide có hoạt tính sinh học trong sản phẩm tổ yến thủy phân có thể làm lành vết thương thông qua cơ chế làm chất truyền tín hiệu kích thích các tế bào nguyên bào sợi di cư, tăng sinh và tổng hợp thành các sợi collagen mới. Đồng thời, các peptide này có thể cung cấp nguồn dinh dưỡng bổ sung để tế bào sử dụng cho quá trình tăng sinh [116]. Cần có nghiên cứu tiếp theo về tách chiết các peptide có hoạt tính làm lành vết thương từ các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây, đồng thời đánh giá hoạt tính cũng như cơ chế làm lành vết thương trên mô hình *in vivo*.

3.6. KẾT QUẢ KIỂM TRA HÀM LƯỢNG ACID SIALIC TỰ DO TRONG CÁC SẢN PHẨM TỔ YẾN THỦY PHÂN BẰNG DỊCH CHIẾT ĐU ĐỦ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY Ở ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP

Bên cạnh các peptide hoạt tính sinh học, acid sialic là thành phần đặc biệt quan trọng quyết định giá trị dược lý của tổ yến. Acid sialic trong tổ yến là N-acetylneuraminic acid (NANA), nằm ở cuối các chuỗi đường liên kết với phân tử glycoprotein. Với cách chung truyền thống, cơ thể người không hấp thụ được toàn bộ lượng acid sialic trong tổ yến. Trong thí nghiệm thủy phân protein tổ yến trong điều kiện tiêu hoá mô phỏng dạ dày và ruột non của Wong và cộng sự (2018), hàm lượng acid sialic tự do kiểm tra được ở mức 17,82% sau 4 giờ tiêu hoá, trong khi 12,24% acid sialic vẫn liên kết trong các chuỗi đường rời rạc, 15,39% nằm trong các protein và 54,55% hàm lượng acid sialic còn lại vẫn không hoà tan, nổi bên trên dịch tiêu hoá [82]. Điều này cho thấy hệ tiêu hoá người không hấp thụ được một nửa lượng acid sialic có trong tổ yến. Việc tiêu hoá sản phẩm tổ yến thủy phân có chứa các glycopeptide và acid sialic được giải phóng ra trong quá trình thủy phân thay vì tổ yến thô không chỉ giúp tăng hiệu suất hấp thu dinh dưỡng có trong tổ yến mà còn tăng cường các giá trị dược lý tổ yến. Hệ enzyme có trong dịch quả của một số loại trái cây không chỉ phân cắt được liên kết peptide của glycoprotein mà còn có thể tác động đến các gốc đường và giải phóng ra các acid sialic tự do. Vì vậy, việc đánh giá tác động của quá trình thủy phân tổ yến bởi các loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đến hàm lượng acid sialic tự do có ý nghĩa rất quan trọng.

Kết quả phân tích hàm lượng NANA tự do trong các mẫu tổ yến thủy phân cho thấy cả ba loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đều có khả năng giải phóng NANA trong cấu trúc glycoprotein với các mức độ khác nhau. Sau 4 giờ thủy phân, hàm lượng NANA tự do trong sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây là cao nhất (17,25 mg/g), cao hơn 7 lần so với tổ yến chưa thủy phân (2,38 mg/g). Sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ và dịch chiết gừng chứa hàm lượng NANA tự do tương ứng là 8,75 mg/g và 8,12mg/g, cao hơn gần 4 lần so với tổ yến chưa thủy phân (Bảng 3.11). Trong khi đó, các dịch chiết đu đủ, gừng, và măng tây đều không chứa acid sialic tự do. Kết quả này cho thấy cả ba loại dịch chiết đều có tiềm năng trong việc tăng cường giải phóng acid sialic liên kết trong tổ yến, đặc biệt là dịch chiết măng tây.

Bảng 3.11. Hàm lượng NANA tự do có trong các mẫu tổ yến trước và sau 4 giờ thủy phân bởi dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây.

	Hàm lượng NANA tự do (mg) trong 1 g tổ yến khô	
	<i>0 giờ</i>	<i>4 giờ</i>
Tổ yến	2,38	2,38
Tổ yến + Đu đủ	2,38	8,75
Tổ yến + Gừng	2,38	8,12
Tổ yến + Măng tây	2,38	17,25

Hàm lượng acid sialic (NANA) tự do trong tổ yến được lần lượt kiểm tra trước và sau khi thủy phân bằng các loại dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây nồng độ 20% tại nhiệt độ 60°C trong 4 giờ. Hàm lượng NANA có trong các mẫu được kiểm tra bằng phương pháp LC-MS/MS. Kết quả thể hiện hàm lượng NANA tự do (mg) có trong 1g tổ yến khô. Dịch chiết đu đủ, dịch chiết gừng và dịch chiết măng tây không chứa NANA tự do.

Chương 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. KẾT LUẬN

Các kết quả thu được trong đề tài nghiên cứu bao gồm:

- Hoạt độ protease tổng của dịch ép đu đủ là $0,866 \pm 0,042$ U/mL, cao nhất trong ba loại dịch ép được kiểm tra. Hai dịch ép còn lại là măng tây và gừng có hoạt độ protease tổng tương ứng lần lượt là $0,78 \pm 0,044$ U/mL và $0,416 \pm 0,03$ U/mL.

- Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết đu đủ phụ thuộc vào các yếu tố nồng độ dịch chiết (20%, 10%, 5% và 2,5%), nhiệt độ (25°C, 37°C và 60°C) và thời gian xử lý (1 giờ, 2 giờ và 4 giờ), trong đó dịch chiết đu đủ thủy phân tổ yến tốt nhất với nồng độ dịch chiết 20%, ở nhiệt độ 60°C và thời gian ủ 4 giờ. Khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết măng tây phụ thuộc nhiều vào yếu tố nồng độ dịch chiết và nhiệt độ, ít chịu ảnh hưởng của yếu tố thời gian, trong đó dịch chiết măng tây thủy phân tổ yến tốt nhất với nồng độ dịch chiết 20%, nhiệt độ 60°C và thời gian ủ 4 giờ. Dịch chiết gừng thể hiện khả năng thủy phân tổ yến không tốt bằng dịch chiết đu đủ và măng tây và gần như giống nhau ở mọi điều kiện bố trí thí nghiệm.

- Khả năng kháng oxy hóa của tổ yến được tăng cường sau khi thủy phân ở 60°C trong 4 giờ bằng dịch chiết đu đủ và dịch chiết gừng ở tất cả nồng độ dịch chiết (20%, 10%, 5%, và 2,5%). Mặt khác, thủy phân tổ yến bằng dịch chiết măng tây không tăng cường khả năng kháng oxy hoá của tổ yến. Kết quả nghiên cứu cho thấy đu đủ và gừng là những nguyên liệu tiềm năng để tạo sản phẩm tổ yến thủy phân có hoạt tính kháng oxy hoá cao.

- Khả năng ức chế enzyme tyrosinase của tổ yến được tăng cường sau khi thủy phân ở 60°C trong 4 giờ bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây ở tất cả nồng độ dịch chiết (20%, 10%, 5% và 2,5%) (ngoại trừ trường hợp dịch chiết đu đủ nồng độ 2,5%). Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đều có tiềm năng tạo sản phẩm tổ yến thủy phân với khả năng ức chế enzyme tyrosinase cao.

- Khả năng hỗ trợ làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của tổ yến được tăng cường sau khi thủy phân ở 60°C trong 4 giờ bằng ba loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây với nồng độ 2,5%. Kết quả nghiên cứu cho thấy các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đều có tiềm năng ứng dụng trong làm lành vết thương.

- Sự thủy phân tổ yến ở 60°C trong 4 giờ bằng ba loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây với nồng độ 20% giúp tăng cường giải phóng acid sialic liên kết trong tổ yến thành dạng tự do, trong đó dịch chiết măng tây có tác dụng tốt nhất và hai loại dịch chiết còn lại có tác dụng gần như tương đương nhau.

4.2. KIẾN NGHỊ

Các kết quả đạt được của đề tài nghiên cứu đã đặt nền móng cho các hướng nghiên cứu tiếp theo bao gồm: (1) Nghiên cứu cơ chế kháng oxy hóa, ức chế enzyme tyrosinase và làm lành vết thương của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây. Đồng thời, đánh giá các hoạt tính sinh học trên mô hình *in vivo* cũng như tách chiết các peptide thể hiện các hoạt tính này. (2) Nghiên cứu khảo sát các đối tượng khác có khả năng thủy phân tổ yến và xác định hoạt tính sinh học được tăng cường của sản phẩm tổ yến thủy phân tạo ra. (3) Nghiên cứu điều kiện thủy phân để tối ưu hoá hiệu suất giải phóng acid sialic tự do trong tổ yến và đánh giá tiềm năng phát triển thành sản phẩm thương mại của sản phẩm tổ yến thủy phân giàu acid sialic. (4) Nghiên cứu ứng dụng các sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết thực vật, tạo sản phẩm có thể tiếp cận người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Zuki, A.B.Z., Abdul Ghani, M.M., Khadim, K.K., Intan-Shameha, A.R. and Kamaruddin, M.I., "Anatomical structures of the limb of white-nest swiftlet (*Aerodramus fuciphagus*) and white-headed munia (*Lonchura maja*)," *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, vol. 35, no. 3, pp. 613-622, 2012.
- [2] Brinkløv, S., Fenton, M.B. and Ratcliffe, J.M., "Echolocation in oilbirds and swiftlets," *Frontiers in Physiology*, vol. 4, pp. 1-13, 2013.
- [3] A. Han, "Edible Nest Swiftlet," 07 08 2010. [Online]. Available: <https://itsnature.org/air/birds-air/edible-nest-swiftlet/>. [Accessed 08 08 2023].
- [4] Jiang, L., *Into the bird's nest world* (1st ed.), Guangdong: Guangzhou, 2016.
- [5] Henri, A.T., Anita T.W., Merijn, A.G. de Bakker, Peter de Knijff, Elske, H. and G. David E. Povel, "A new phylogeny of swiftlets (Aves: Apodidae) based on cytochrome-b DNA," *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 29, pp. 86-93, 2003.
- [6] Li, Y.F., Zhang, Z.F., Li, Y.F., Xiao, H.X., Liu, G.H., Gu, L.R. and Zhang, Y., "Aerodramus fuciphagus and "Bird house" technology in Malaysia," *Forestry and Environmental Science*, vol. 34, no. 2, pp. 131-135, 2018.
- [7] Dai, Y., Cao, J., Wang, Y., Chen, Y. and Jiang, L., "Review: A comprehensive review of edible bird's nest," *Food Research International*, vol. 140, 2021.
- [8] Hui, T.K., "Aerodramus fuciphagus," 11 06 2018. [Online]. Available: <https://www.inaturalist.org/photos/20544267>. [Accessed 08 08 2023].
- [9] daotaonec.edu.vn, "Tổng hợp 99+ hình về mô hình nuôi yến hiệu quả," 10 02 2023. [Online]. Available: <https://daotaonec.edu.vn/mo-hinh-nuoi-yen-hieu-qua/>. [Accessed 08 08 2023].
- [10] Feng, L.Y., "Bird's nest trade between China and Southeast Asia in Ming and Qing Dynasties," *Researches in Chinese Economic History*, vol. 2, pp. 103-112, 2015.
- [11] T. p. c. n. 360, "Tổ yến trắng sơ chế 50g TP1," [Online]. Available: <https://thucphamchucnang360.com/home/details/1290/to-yen-trang-so-che-50g-tp1.html>. [Accessed 08 08 2023].
- [12] T. N. Yến, "Premium Edible Bird's Nests – Yellow Super 250gr," Thiên Nhiên Yến, [Online]. Available: <https://thiennhienyenus.com/shop/yellow->

super-250gr/. [Accessed 08 08 2023].

- [13] A. S. Institute, "HOW EDIBLE BIRD'S NEST CHANGES COLOUR FROM WHITE TO RED," 20 12 2018. [Online]. Available: <https://www.avianscienceinstitute.com/how-edible-birds-nest-changes-colour-from-white-to-red/>. [Accessed 08 08 2023].
- [14] Babji, A.S., Ety Syarmila, I.K., Nur 'Aliah, D., Nurul Nadia, M., Hadi Akbar, D., Norrakiah, A.S., Ghassem, M., Najafian, L. and Salma, M.Y., "Assessment on bioactive components of hydrolysed edible bird nest," *International Food Research Journal*, vol. 25, no. 5, pp. 1936-1941, 2018.
- [15] Lee, T.H., Lee, C.H., Azmi, N.A., Kavita, S., Wong, S., Znati, M. and Jannet, H.B., "Characterization of polar and non-polar compounds of house edible bird's nest (EBN) from Johor, Malaysia," *Chemistry & Biodiversity*, 2019.
- [16] You, Y.Y., Li, Z.J., Xu, J., Cao, Y., Cong, P.X. and Xue, C.H., "Analysis of nutritional components in six edible bird's nests," *Acta Nutrimenta Sinica*, vol. 34, no. 4, pp. 400-402, 2012.
- [17] Quek, M.C., Chin, N.L., Yusof, Y.A., Law, C.L. and Tan, S.W., "Characterization of edible bird's nest of different production, species and geographical origins using nutritional composition, physicochemical properties and antioxidant activities," *Food Research International*, vol. 109, pp. 35-43, 2018.
- [18] Zha, S.H., Jiang, S.H., Wang, Z.F. and Zhang, H., "Study on the contract of white bird's nest and red one," *Research and Practice on Chinese Medicines*, vol. 25, no. 2, pp. 23-25, 2011.
- [19] Mei, X.M., Wu, X.X., Qiao, L., Li, Y. and Zhang, C., "Nutrient composition and hazard factors of the edible bird's nest," *Modern Food Science and Technology*, vol. 36, no. 2, pp. 277-282, 2020.
- [20] Liu, Z.D., Wang, Y.Y., Guo, B.H., Liu, Z.M., Su, M.Y., Li, Y.F. and Gao, H.Y., "Research advances in sialic acids," *Research advances in sialic acids*, vol. 4, p. 368-373, 2010.
- [21] Daud, N., Yusop, S.M., Babji, A.S., Lim, S.J., Sarbini, S.R. and Yan, T.H., "Edible Bird's Nest: physicochemical properties, production, and application of bioactive extracts and glycopeptides," *Food review international*, 2019.
- [22] Zack, C.F.W., Gallant, K.L.C., Kevin, Q.Y.W., Karman, K.M.P., Yicun, C., Karl, W.K.T. and Tina, T.X.D., "Complete digestion of edible bird's nest releases free N-acetylneuraminic acid and small peptides: an efficient method to improve functional properties," *Food & Function*, vol. 9, pp. 5139-5149,

2018.

- [23] C. Wang, "The composition of chinese edible birds' nests and the nature of their proteins," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 49, no. 2, pp. 429-439, 1921.
- [24] Gao, J.P., Yao, Z.L. and Zhang, G. F., "Preparation of bird's oligopeptides and its Bioactivty determination," *Journal of biology*, vol. 36, no. 1, pp. 96-99, 2019.
- [25] Lin, X.M., Zhou, Y.S. and Wang, W.M., "Quality study on edible's bird nest of Indonesian," *Strait Pharmaceutical Journal*, vol. 25, no. 3, pp. 30-32, 2013.
- [26] Chen, D., Bao, G.R., Huang, S.Q. and Xu, J., "Analysis of amino acids in edible bird's nest and its products," *Fujian Analysis & Testing*, vol. 6, no. 1, pp. 630-631, 1997.
- [27] Hou, H.C., Shi, Y.B., Huang, W.Q., Lai, S.H., He, J.Y. and Qian, W.Q., "Analysis of total nitrogen and amino acid content in Chinese bird's nest," *Journal of Chinese Medicinal Materials*, vol. 30, no. 8, pp. 961-963, 2007.
- [28] Cao, Y., Xu, J., Gao, Y., Wang, J.F., Li, Z.J. and Xue, C.H., "Comparative analysis of nutritional components in White-edible bird's nest (EBN) and Red-EBN," *Science and Technology of Food Industry*, vol. 10, pp. 414-417, 2011.
- [29] Noor, H.S.M., Babji, A.S. and Lim, S.J., Nutritional composition of different grades of edible bird's nest and its enzymatic hydrolysis, AIP Conference Proceedings, 1940.
- [30] Shangguan, G.L., Liang, X.Q., Huang, G.D., Li, X.P. and Zeng, Q.H., "Determination of amino acids in different cubilose by method of online pre-column OPA-FMOC derivatization HPLC," *Science and Technology of Food Industry*, vol. 39, no. 12, pp. 250-254, 2018.
- [31] Chen, C.X., Yang, S. and Lin, L.Q., "Comparative study of domestic and foreign quality standards for edible bird's nest," *Journal of Food Safety and Quality*, vol. 6, no. 7, pp. 2603-2609, 2015.
- [32] Goh, D.L.M. , Chua, K.Y., Chew, F.T., Seow, T.K., Ou, K.L., Yi, F.C. and Lee, B.W., "Immunochemical characterization of edible bird's nest allergens," *The Journal of allergy and clinical immunology*, vol. 107, no. 6, pp. 1082-1087, 2001.
- [33] Wei, D.X., Jiang, L.Z., Wang, C. and Wang, Z.J., "Research progress of biological activity of sialic acid and its application," *Food and Nutrition in*

- China*, vol. 17, no. 7, pp. 64-68, 2011.
- [34] Chen, L., Fan, Q.Y., Lian, J.M. and Zhang, Y., "Research status of functional characteristics of sialic acid in bird's nest," *The Light & Textile Industries of Fujian*, vol. 12, pp. 34-37, 2014.
- [35] Guo, C.T., Takahashi, T., Bukawa, W. , Takahashi, N., Yagi, H., Kato, K. and Suzuki, Y., "Edible bird's nest extract inhibits influenza virus infection," *Antiviral Research*, vol. 70, no. 3, pp. 140-146, 2006.
- [36] Guo, C.T., Cao, Y., Hu, Z.P., Wo, E.K., Chen, S.S., You, J.B. and Zhang, R.X., "Effect of edible bird's nest on hemogram and secondary influenza virus infection of mice with aplastic anemia," *International Journal of Epidemiology and Infectious Disease*, vol. 44, no. 4, pp. 228-232, 2017.
- [37] Haghani, A. , Mehrbod, P., Safi, N., Aminuddin, N.A., Bahadoran, A., Omar, A.R. and Ideris, A., "In vitro and in vivo mechanism of immunomodulatory and antiviral activity of Edible Bird's Nest (EBN) against influenza A virus (IAV) infection," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 185, pp. 327-340, 2016.
- [38] Von Itzstein, M., Wu, W.Y., Kok, G.B., Pegg, M.S., Dyason, J.C., Jin, B. and Penn, C.R., "Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication," *Nature*, vol. 363, no. 6428, pp. 418-423, 1993.
- [39] Hou, Y., Xian, X.M., Lin, J.R., Lai, X.P. and Chen, J.N., "The effects of edible birds nest (*Aerodramus*) on Con A-induced rats' lymphocytes transformation," *China Modern Medicine*, vol. 17, no. 26, pp. 9-11, 2010.
- [40] Zhang, M., Wang, D.S. and Wang, J., "The effect of the ZHENZHUYANWO extracts on animal function," *Pharmaceutical Biotechnology*, vol. 1, no. 2, pp. 49-51, 1994.
- [41] Zhao, R., Li, G., Kong, X.J., Huang, X.Y. and Li, W., "The improvement effects of edible bird's nest on proliferation and activation of B lymphocyte and its antagonistic effects on immunosuppression induced by cyclophosphamide," *Drug Design*, vol. 10, pp. 371-381, 2016.
- [42] Cao, Y., Xu, J., Wang, J.F., You, Y.Y. and Xue, C.H., "Studies on immunomodulation function of Indonesia white edible bird's nest on hypimmune mice," *Acta Nutrimenta Sinica*, vol. 34, no. 2, pp. 168-171, 2012.
- [43] Xie, Y., Zeng, H., Huang, Z., Xu, H., Fan, Q., Zhang, Y. and Zheng, B., "Effect of maternal administration of edible bird's nest on the learning and memory abilities of suckling offspring in mice," *Neural Plasticity*, 2018.

- [44] Careena, S., Sani, D., Tan, S.N., Lim, C.W., Hassan, S., Norhafizah, M. and Lim, C.T.S., "Effect of edible bird's nest extract on lipopolysaccharide-induced impairment of learning and memory in wistar rats," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
- [45] Yew, M.Y., Koh, R.Y., Chye, S.M., Othman, I. and Ng, K.Y., "Edible bird's nest ameliorates oxidative stress-induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 14, p. 391, 2018.
- [46] Yew, M.Y., Koh, R.Y., Chye, S.M., Othman, I., Soga, T., Parhar, I. and Ng, K.Y., "Edible bird's nest improves motor behavior and protects dopaminergic neuron against oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease mouse model," *Journal of Functional Foods*, vol. 48, pp. 576-585, 2018.
- [47] Yew, M.Y., Koh, R.Y., Chye, S.M., Zainal Abidin, S.A., Othman, I. and Ng, K.Y., "Neurotrophic properties and the de novo peptide sequencing of edible bird's nest extracts," *Food Bioscience*, vol. 32, 2019.
- [48] Hou, Z.P., Imam, M.U., Ismail, M., Ismail, N., Zhang, Y.D., Ideris, A. and Mahmud, R., "Effects of edible bird's nest on hippocampal and cortical neurodegeneration in ovariectomized rats," *Food and Function*, vol. 6, pp. 1701-1711, 2015.
- [49] Hou, Z.P., He, P.Y., Imam, M.U., Qi, J.M., Tang, S.Y., Song, C.G. and Ismail, M., "Edible bird's nest prevents menopause-related memory and cognitive decline in rats via increased hippocampal sirtuin-1 expression," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- [50] Zainal Abidin, F., Hui, C.K., Luan, N.S., Mohd Ramli, E.S., Lee, T.H. and Abd Ghafar, N., "Effects of edible bird's nest (EBN) on cultured rabbit corneal keratocytes," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 11, 2011.
- [51] Roh, K.B., Lee, J., Kim, Y.S., Park, J. and Kim, J., "Mechanisms of edible bird's nest extract-induced proliferation of human adipose-derived stem cells," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, pp. 1-11, 2011.
- [52] Albishtue, A.A., Yimer, N., Zakaria, M.Z.A., Haron, A.W., Babji, A.S., Abubakar, A.A. and Almhanawi, B.H., "Effects of EBN on embryo implantation, plasma concentrations of reproductive hormones, and uterine expressions of genes of PCNA, steroids, growth factors and their receptors in rats," *Theriogenology*, vol. 126, pp. 310-319, 2019.
- [53] Kim, K.C., Kang, K.A. , Lim, C.M., Park, J.H., Jung, K.S. and Hyun, J.W.,

- "Water extract of edible bird's nest attenuated the oxidative stress-induced matrix metalloproteinase-1 by regulating the mitogen-activated protein kinase and activator protein-1 pathway in human keratinocytes," *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, vol. 55, no. 3, pp. 347-354, 2012.
- [54] Ghassem, M., Arihara, K., Mohammadi, S., Sani, N.A. and Babji, A.S., "Identification of two novel antioxidant peptides from edible bird's nest (*Aerodramus fuciphagus*) protein hydrolysates," *Food and Function*, vol. 8, no. 5, pp. 2046-2052, 2017.
- [55] Albishtue, A.A., Yimer, N., Zakaria, M.Z.A., Haron, A.W., Yusoff, R., Assi, M.A. and Almhanawi, B.H., "Edible bird's nest impact on rats' uterine histomorphology, expressions of genes of growth factors and proliferating cell nuclear antigen, and oxidative stress level," *Veterinary World*, vol. 11, no. 1, pp. 71-79, 2018.
- [56] Albishtue, A.A., Yimer, N., Zakaria, M.Z.A., Haron, A.W., Babji, A.S., Abubakar, A.A. and Almhanawi, B.H., "The role of edible bird's nest and mechanism of averting lead acetate toxicity effect on rat uterus," *Veterinary World*, vol. 12, no. 7, pp. 1013-1021, 2019.
- [57] Vimala, B., Hussain, H. and Wan Nazaimoon, W.M., "Effects of edible bird's nest on tumour necrosis factor-alpha secretion, tumour necrosis factor-alpha secretion lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages," *Food and Agricultural Immunology*, vol. 23, no. 4, pp. 303-314, 2012.
- [58] Zhang, Y.D., Imam, M.U., Ismail, M., Hou, Z.P., Abdullah, M.A., Ideris, A. and Ismail, N., "Edible bird's nest attenuates high fat diet-induced oxidative stress and inflammation via regulation of hepatic antioxidant and inflammatory genes," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 15, no. 1, pp. 1-7, 2015.
- [59] Matsukwa, N., Matsumoyo, M., Bukawa, W., Chihi, H., Nakayama, K., Hara, H. and Tsukahara, T., "Improvement of bone strength and dermal thickness due to dietary edible bird's nest extract in ovariectomized rats," *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 75, no. 3, pp. 590-592, 2011.
- [60] Chua, K.H., Lee, T.H., Nagandran, K., Md Yahaya, N.H., Lee, C.T., Tjih, E.T.T. and Abdul Aziz, R., "Edible bird's nest extract as a chondro-protective agent for human chondrocytes isolated from osteoarthritic knee: In vitro study," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 13, 2013.
- [61] Ramachandran, R., Babji, A.S. and Sani, N.A., "Antihypertensive potential of bioactive hydrolysate from edible bird's nest," *AIP Conference Proceedings*, vol. 1940, 2018.

- [62] Zhang, Y.D., Imam, M.U., Ismail, M., Ooi, D.J., Sarega, N., Azmi, N.H. and Yusuf, N.B., "Edible bird's nest prevents high fat diet-induced insulin resistance in rats," *Journal of Diabetes Research*, vol. 2015, 2015.
- [63] Hou, Z.P., Imam, M.U., Ismail, M., Ooi, D.J., Ideris, A. and Mahmud, R., "Nutrigenomic effects of edible bird's nest on insulin signaling in ovariectomized rats," *Drug Design, Development and Therapy*, vol. 9, pp. 4115-4125, 2015.
- [64] Shan, Y.J. and Chen, Z.K., "A kind of Ejiao-edible bird's nest drink and its preparation method," [Online]. Available: CN: CN201910252755.3. [Accessed 08 01 2019].
- [65] Liu, Y.S., "A kind of fresh ginseng - edible bird's nest and its preparation method.," [Online]. Available: CN: CN201811084055.X. [Accessed 08 01 2019].
- [66] Lai, X.J., Liu, X.Q., Ma, F.C., Lan, Q.X. and Yang, G.W., "The Summary on Processing Techniques of Edible Bird's Nest," *Guangdong Chemical Industry*, vol. 43, no. 6, pp. 98-99, 2016.
- [67] Fan, Q.Y., Chen, X.L., Lian, J.M. and Chen, L., "Microwave-assisted enzymatic hydrolysis of birds nest sialic acid and its effect on improving intelligence of young rats," *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, vol. 35, no. 11, pp. 81-86, 2015.
- [68] Li, J., Zhong, W.J., Wang, X.Y., Ge, F.H. and Jiang, L., "Optimization of extraction process of sialic acid from bird's nest by response surface methodology," *Journal of Chinese Medicinal Materials*, vol. 40, no. 7, pp. 1670-1674, 2017.
- [69] Amin, A.M., Din, K. and Hui, K.C., "Optimization of enzymatic hydrolysis condition of edible bird's nest using Protamex to obtain maximum degree of hydrolysis," *Asian Journal of Agriculture and Biology*, vol. 7, no. 1, pp. 1-9, 2019.
- [70] Zheng, L.J., Li, Z.Y., Jian, Y.Y., Xie, Y., Zhang, Y., Zheng, B.D. and Xu, H., "Optimization of the extraction of glycoprotein from bird's nest by response surface methodology," *Science and Technology of Food Industry*, vol. 38, no. 8, pp. 267-271, 2017.
- [71] Wong, Z.C.F., Chan, G.K.L., Dong, T.T.X. and Tsim, K.W.K., "Origin of red color in edible bird's nests directed by the binding of Fe ions to Acidic Mammalian Chitinase-like protein," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 66, pp. 5644-5653, 2018.

- [72] Jing Yi Gan, Lee Sin Chang, Nur Athirah Mat Nasir, Abdul Salam Babji and Seng Joe Lim, "Evaluation of physicochemical properties, amino acid profile and bioactivities of edible bird's nest hydrolysate as affected by drying methods," *LWT - Food Science and Technology*, 2020.
- [73] Yan, T.H., Mun, S.L., Lee, J.L., Lim, S.J., Daud, N.A., Babji, A.S. and Sarbini, S.R., "Bioactive sialylated-mucin (SiaMuc) glycopeptide produced from enzymatic hydrolysis of edible swiftlet's nest (ESN): degree of hydrolysis, nutritional bioavailability, and physicochemical characteristics," *International Journal of Food properties*, vol. 25, no. 1, pp. 252-277, 2022.
- [74] Samraj, A.N., Läubli, H., Varki, N. and Varki, A., "Involvement of a non-human sialic acid in human cancer," *Front. Oncol.*, vol. 4, 2014.
- [75] Babji, A.S., Nurfatin, M.H., Ety Syarmila, I.K., Farahniza, Z. and Masitah, M., "Bioactive swiftlet nest capsule, natural antihypertensive & antioxidant relief capsules," *Safe Food Expo MAFSA*, Vols. 13th-14th, 2014.
- [76] Adamson, N.J. and Reynolds, E.C., "Characterization of casein phosphopeptides prepared using alcalase: determination of enzyme specificity," *Enzyme Microbial. Technol.*, vol. 19, pp. 202-207, 1996.
- [77] Mandal, C., "Sialic acid binding lectins," *Experientia*, vol. 46, pp. 433-441, 1990.
- [78] Svennerholm, L., "Quantitative Estimation of Sialic Acids: II. A Colorimetric Resorcinol-Hydrochloric Acid Method," *Biochim. Biophys. Acta.*, vol. 24, pp. 604-611, 1957.
- [79] Fan, Q., Lian, J., Liu, X., Zou, F., Wang, X. and Chen, M., "A study on the skin whitening activity of Digesta from edible bird's nest: a mucin glycoprotein," *Gels*, vol. 8, no. 1, p. 24, 2022.
- [80] Murugan, D.D., Zain, Z., Choy, K.W., Zamakshshari, N.H., Choong, M.J., Lim, Y.M. and Mustafa, M.R., "Edible bird's nest protects against hyperglycemia-induced oxidative stress and endothelial dysfunction," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 10, p. 1642, 2020.
- [81] Ling, J.W.A., Chang, L.S., Babji, A.S. and Lim, S.J., "Recovery of value-added glycopeptides from edible bird's nest (EBN) co-products: enzymatic hydrolysis, physicochemical characteristics and bioactivity," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 100, no. 13, pp. 4714-4722, 2020.
- [82] Wong, Z.C.F., Chan, G.K.L., Wu, K.Q.Y., Poon, K.K.M., Chen, Y.C., Dong, T.T.X. and Tsim, K.W.K., "Complete digestion of edible bird's nest releases free N-acetylneuraminic acid and small peptides: an efficient method to improve functional properties," *Food & Function*, vol. 9, no. 10, pp. 5139-

5149, 2018.

- [83] Chen, Q.X., Song, K.K., Qiu, L., Liu, X.D., Huang, H. and Guo, H.Y., "Inhibitory effects on mushroom tyrosinase by p-alkoxybenzoic acids," *Food Chemistry*, vol. 91, no. 2, pp. 269-274, 2005.
- [84] Moon, J.Y., Yim, E.Y., Song, G., Lee, N.H. and Hyun, C.G., "Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants," *Eurasian Journal of Biosciences*, vol. 4, pp. 41-53, 2010.
- [85] Wong, C.F., Chan, G.K.L., Zhang, M.L., Yao, P., Lin, H.Q., Dong, T.T.X., Li, G., Lai, X.P. and Tsim, K.W.K., "Characterization of edible bird's nest by peptide fingerprinting with principal component analysis," *Food Quality and Safety*, vol. 1, no. 1, pp. 83-92, 2017.
- [86] Fan, Q., Liu, X., Wang, Y., Xu, D. and Guo, B., "Recent advances in edible bird's nests and edible bird's nest hydrolysates," *Food Science and Technology*, vol. 42, 2022.
- [87] Wang, X., Fan, Q., Lian, J., Zou, F., Wang, Y., Li, J., Chen, M., Zhong, F. and Li, Y., "Study on in vitro digestion characteristics of bird's nest," *Journal of Food Science and Biotechnology*, vol. 40, no. 8, pp. 70-77, 2021.
- [88] González-Rábade, N., Badillo-Corona, J., Aranda-Barradas, J. and Oliver-Salvador, M., "Production of plant proteases in vivo and in vitro – A review," *Biotechnology Advances*, vol. 29, pp. 983-996, 2011.
- [89] Feijoo-siota, L. and Villa, T.G., "Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications," *Food and Bioprocess Technology*, vol. 4, pp. 1066-1088, 2011.
- [90] Manzoor Ahmad Shah and Shabir Ahmad Mir, "Plant Proteases in Food Processing".
- [91] Nafi, A., Ling, F.H., Bakar, J. and Ghazali, H.M., "Partial characterization of an enzymatic extract from bentong ginger (*Zingiber officinale* var. Bentong)," *Molecules*, vol. 19, pp. 12366-12348, 2014.
- [92] Ha, M., Bekhit, A.E.D.A., Carne, A. and Hopkins, D.L., "Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts, and their activities toward meat proteins," *Food Chem*, vol. 136, pp. 989-998, 2013.
- [93] Zulkifli, A.S. , Babji, A.S., Lim, S.J., Teh, A.H., Daud, N.M. and Rahman, H.A., "Effect on different hydrolysis time and enzymes on chemical properties, antioxidant and antihyperglycemic activities of edible bird nest hydrolysate," *Malays. Appl. Biol.*, vol. 48, no. 2, pp. 149-156, 2019.

- [94] Nurfatim, M.H., Ety Syarmila, I.K., Nur 'Aliah, D., Zalifah, M.K., Babji, A.S. and Ayob, M.K., "Effect of enzymatic hydrolysis on Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity in swiftlet saliva," *International Food Research Journal*, vol. 23, no. 1, pp. 141-146, 2016.
- [95] Nguyễn Quang Phách, Yên sào và đời sống chim yến hàng, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, 1999.
- [96] Bùi Thị Hạnh and Công ty Cổ phần nước giải khát Sanest Khánh Hoà, "Các yếu tố ảnh hưởng đến mức độ thủy phân yến sào Khánh Hoà," 26 06 2020. [Online]. Available: <https://vjst.vn/vn/tin-tuc/3423/cac-yeu-to-anh-huong-den-muc-do-thuy-phan-cua-yen-sao-khanh-hoa.aspx>. [Accessed 25 09 2022].
- [97] Ketut, R., Ni, W.L.K., Jurusan, K., FMIPA, Universitas Udayana and Bukit, J., "Isolation of protease enzyme from chayote fruit (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) with ammonium sulfate fractionation method," *International Journal of biosciences and biotechnology*, vol. 2, no. 2, pp. 78-82, 2015.
- [98] Nurul Nadia, M., Babji, A.S., Ayub, M.K. and Nur 'Aliah, D., "Effect of enzymatic hydrolysis on antioxidant capacity of cave edible bird's nests hydrolysate," *International Journal of ChemTech Research*, vol. 10, no. 2, pp. 1100-1107, 2017.
- [99] Prior, R.L., Wu, X.L. and Schaich, K., "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements," *J. Agric. Food Chem*, vol. 53, p. 4290-4302, 2005.
- [100] Lê Quốc Phong, Nguyễn Hoàng Đăng Khoa, Nguyễn Tài Hoàng, Đinh Minh Hiệp and Ngô Kế Sương, "Khảo sát hoạt tính kháng oxy hoá và bảo vệ DNA in vitro của nấm *Ophiocordyceps Sinensis* giàu selen," in *Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2020*, 2020.
- [101] Nguyễn Thị Khoa, Nguyễn Thị Phương, Phan Ngọc Hân, Ngô Hoàng Long, Đỗ Đức Thăng and Đỗ Đăng Giáp, "Nghiên cứu hoạt tính làm lành vết thương và kháng viêm của Lan Gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata) nuôi cấy mô," *Tạp chí Khoa học & công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành*, vol. 16, 2021.
- [102] Khare, E. and Yadav, A., "The Role of Microbial Enzyme Systems in Plant Growth Promotion," in *Climate Change and Environmental Sustainability Volumn 5*, MDPI, 2017, p. 122.
- [103] Martinez, M., Gómez-Cabellos, S., Giménez, M.J., Barro, F., Diaz, I. and Diaz-Mendoza, M., "Plant Proteases: From Key Enzymes in Germination to Allies for Fighting Human Gluten-Related Disorders," *Frontiers in Plant Science*, vol. 10, p. 721, 2019.

- [104] U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, "Papayas, raw," U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 04 01 2019. [Online]. Available: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169926/nutrients>. [Accessed 27 02 2024].
- [105] U. D. O. AGRICULTURE, "Ginger root, raw," U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 04 01 2019. [Online]. Available: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169231/nutrients>. [Accessed 27 02 2024].
- [106] U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, "Asparagus, raw," U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 04 01 2019. [Online]. Available: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168389/nutrients>. [Accessed 27 02 2024].
- [107] Sun, Q., Zhang, B., Yan, Q.-J. and Jiang, Z.-Q., "Comparative analysis on the distribution of protease activities among fruits and vegetable resources," *Food Chemistry*, vol. 213, pp. 708-713, 2016.
- [108] Troncoso, F.D., Sánchez, D.A. and Ferreira, M.L., "Production of Plant Proteases and New Biotechnological Applications: An Updated Review," *ChemistryOpen*, vol. 11, 2022.
- [109] Sila, A. and Bougatef, A., "Antioxidant peptides from marine by-products: Isolation, identification and application in food systems. A review," *Journal of Functional Foods*, vol. 21, pp. 10-26, 2016.
- [110] Xu, N., Chen, G. and Liu, H., "Antioxidative categorization of twenty amino acids based on experimental evaluation," *Molecules*, vol. 22, no. 2066, 2017.
- [111] Clemente, A., "Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition," *Trends in Food and Technology*, vol. 11, pp. 254-262, 2020.
- [112] Hernández-Ledesma, B., Miralles, B. and Amigo, L., "Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 85, no. 6, pp. 1041-1048, 2005.
- [113] Mangoni, M.L., McDermott, A.M. and Zasloff, M., "Antimicrobial peptides and wound healing: biological and therapeutic considerations," *Exp Dermatol*, vol. 25, pp. 167-173, 2016.
- [114] Lalita, C., Thunwa, B., Pilaiwanwadee, H., Wanida, S., Rotimi, E.A. and Soottawat, B., "In vitro antioxidant and wound-healing activities of hydrolyzed collagen from defatted Asian sea bass skin as influenced by different enzyme types and hydrolysis processes," *Royal Society of Chemistry*, vol. 11, pp. 18144-18151, 2021.

- [115] Ohara, H., Ichikawa, S., Matsumoto, H., Akiyama, M., Fujimoto, N., Kobayashi, T. and Tajima, S., "Collagen-derived dipeptide, proline-hydroxyproline, stimulates cell proliferation and hyaluronic acid synthesis in cultured human dermal fibroblasts," *The Journal of Dermatology*, vol. 37, no. 4, pp. 330-338, 2010.
- [116] Fatuma, F.F., Rui-He, Y., Meng-Zhen, L., Chun-Jie, L., Hui-Qin, C., Ying, J., Tao, T., Wei-Yan, Q. and Han-Mei, X., "The wound healing potential of collagen peptides derived from the jellyfish *Rhopilema esculentum*," *Chinese Journal of Traumatology*, vol. 22, pp. 12-20, 2019.
- [117] Jian, Z., Xiaohang, F., Xiaohang, F., He, L., Zhiwei, Y., Xinqi, L. and Xinqi, L., "Enhancement of nutritional soy protein and peptide supplementation on skin repair in rats," *Journal of Functional Foods*, vol. 75, p. 104231, 2020.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Kết quả kiểm tra hàm lượng L-tyrosine được chuyển hóa từ casein bởi các loại dịch ép đu đủ, gừng và măng tây.

Dịch ép	Hàm lượng L-tyrosine (μmol) / Thể tích mẫu cho vào phản ứng (mL)		
	Lần 1	Lần 2	Lần 3
Đu đủ pha loãng 10 lần	0,037 / 0,5	0,020 / 0,25	0,041 / 0,5
Gừng pha loãng 2 lần	0,050 / 0,25	0,096 / 0,5	0,174 / 1
Măng tây pha loãng 10 lần	0,019 / 0,25	0,018 / 0,25	0,033 / 0,5

Phụ lục 2. Kết quả hoạt độ protease tổng của các loại dịch ép đu đủ, gừng và măng tây.

Dịch ép	Hoạt độ protease (U/mL)		
	Lần 1	Lần 2	Lần 3
Đu đủ pha loãng 10 lần	0,082	0,087	0,090
Gừng pha loãng 2 lần	0,221	0,211	0,192
Măng tây pha loãng 10 lần	0,082	0,078	0,073

Phụ lục 3. Kết quả thử nghiệm khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ

Nhóm thí nghiệm tương ứng nồng độ dịch chiết đu đủ sử dụng	Đối tượng kiểm tra	Khả năng kháng oxy hóa (%)		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Dịch chiết đu đủ 20%	Tổ yến	2,35	8,79	8,60
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	36,06	36,63	34,63
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	19,74	25,50	25,25
Dịch chiết đu đủ 10%	Tổ yến	13,12	13,30	13,18
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	36,96	39,56	39,31
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	19,18	24,69	24,44
Dịch chiết đu đủ 5%	Tổ yến	30,38	28,16	31,62
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	41,96	54,76	54,38
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	38,18	35,95	39,29
Dịch chiết đu đủ 2,5%	Tổ yến	44,31	46,16	44,43
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	63,86	67,39	67,26
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	50,33	52,19	51,21

Phụ lục 4. Kết quả thử nghiệm khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng

Nhóm thí nghiệm tương ứng nồng độ dịch chiết gừng sử dụng	Đối tượng kiểm tra	Khả năng kháng oxy hóa (%)		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Dịch chiết gừng 20%	Tổ yến	10,48	16,02	11,20
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	31,05	29,04	33,72
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	20,64	18,36	26,04
Dịch chiết gừng 10%	Tổ yến	19,66	22,14	16,60
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	36,72	34,90	34,38
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	26,30	24,22	26,69
Dịch chiết gừng 5%	Tổ yến	33,07	35,22	31,90
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	52,54	51,17	49,28
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	42,12	40,49	41,60
Dịch chiết gừng 2,5%	Tổ yến	50,13	49,93	49,87
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	70,01	71,09	70,77
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	60,09	60,42	63,09

Phụ lục 5. Kết quả thử nghiệm khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây

Nhóm thí nghiệm tương ứng nồng độ dịch chiết măng tây sử dụng	Đối tượng kiểm tra	Khả năng kháng oxy hóa (%)		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Dịch chiết măng tây 20%	Tổ yến	13,15	11,04	8,30
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	32,88	22,78	25,79
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	19,81	11,57	16,20
Dịch chiết măng tây 10%	Tổ yến	22,77	20,35	19,02
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	38,70	40,00	25,46
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	25,63	28,78	15,87
Dịch chiết măng tây 5%	Tổ yến	40,56	39,48	32,96
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	55,23	53,74	54,47
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	42,16	42,52	44,88
Dịch chiết măng tây 2,5%	Tổ yến	61,72	62,43	54,96
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	70,24	73,83	67,04
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	57,17	62,61	57,45

Phụ lục 6. Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ

Nhóm thí nghiệm tương ứng nồng độ dịch chiết đu đủ sử dụng	Đối tượng kiểm tra	Khả năng ức chế enzyme tyrosinase (%)		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Dịch chiết đu đủ 20%	Tổ yến	9,75	9,00	10,34
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	26,13	26,54	28,70
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	16,52	15,45	17,99
Dịch chiết đu đủ 10%	Tổ yến	7,43	7,81	6,90
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	22,17	23,02	22,49
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	13,31	14,64	13,34
Dịch chiết đu đủ 5%	Tổ yến	6,50	7,66	6,42
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	22,14	21,23	23,99
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	11,05	11,59	12,69
Dịch chiết đu đủ 2,5%	Tổ yến	6,97	7,21	4,03
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ	17,30	21,83	17,69
	Tổ yến + Dịch chiết đu đủ (bất hoạt)	10,22	14,86	3,93

Phụ lục 7. Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng

Nhóm thí nghiệm tương ứng nồng độ dịch chiết gừng sử dụng	Đối tượng kiểm tra	Khả năng ức chế enzyme tyrosinase (%)		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Dịch chiết gừng 20%	Tổ yến	9,75	9,00	10,34
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	63,29	64,42	64,75
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	64,86	63,58	65,19
Dịch chiết gừng 10%	Tổ yến	7,43	7,81	6,90
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	61,18	59,63	55,60
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	51,71	59,36	54,81
Dịch chiết gừng 5%	Tổ yến	6,50	7,66	6,42
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	58,80	57,36	58,32
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	48,14	53,92	50,37
Dịch chiết gừng 2,5%	Tổ yến	6,97	7,21	4,03
	Tổ yến + Dịch chiết gừng	51,67	50,04	50,08
	Tổ yến + Dịch chiết gừng (bất hoạt)	38,83	42,37	33,51

Phụ lục 8. Kết quả thử nghiệm khả năng ức chế enzyme tyrosinase của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây

Nhóm thí nghiệm trương ứng nồng độ dịch chiết măng tây sử dụng	Đối tượng kiểm tra	Khả năng ức chế enzyme tyrosinase (%)		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Dịch chiết măng tây 20%	Tổ yến	9,75	9,00	10,34
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	54,19	54,88	59,07
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	49,31	52,17	58,99
Dịch chiết măng tây 10%	Tổ yến	7,43	7,81	6,90
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	43,70	49,02	47,27
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	34,43	35,51	42,21
Dịch chiết măng tây 5%	Tổ yến	6,50	7,66	6,42
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	37,07	42,91	40,21
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	27,02	26,12	33,30
Dịch chiết măng tây 2,5%	Tổ yến	6,97	7,21	4,03
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây	30,86	34,07	34,85
	Tổ yến + Dịch chiết măng tây (bất hoạt)	22,51	19,56	13,39

Phụ lục 9. Kết quả tỉ lệ khép vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người *in vitro* của tổ yến 2%, dịch chiết đu đủ 2,5%, tổ yến thủy phân bằng dịch chiết đu đủ 2,5%

Thời gian xử lý (giờ)	Đối tượng kiểm tra	Tỉ lệ khép vết thương (%) so với thời điểm 0 giờ		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
12	Nước	11,12	5,11	9,42
	Dịch chiết đu đủ 2,5%	9,92	13,46	14,11
	Tổ yến 2%	14,67	14,96	14,62
	Tổ yến 2% + Dịch chiết đu đủ 2,5%	51,57	50,80	54,31
24	Nước	19,25	16,47	18,02
	Dịch chiết đu đủ 2,5%	20,07	24,04	27,06
	Tổ yến 2%	25,61	25,90	28,38
	Tổ yến 2% + Dịch chiết đu đủ 2,5%	75,68	77,25	77,83

Phụ lục 10. Kết quả tỉ lệ khép vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người *in vitro* của tổ yến 2%, dịch chiết gừng 2,5%, tổ yến thủy phân bằng dịch chiết gừng 2,5%

Thời gian xử lý (giờ)	Đối tượng kiểm tra	Tỉ lệ khép vết thương (%) so với thời điểm 0 giờ		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
12	Nước	7,37	6,13	11,82
	Dịch chiết gừng 2,5%	2,85	4,27	8,32
	Tổ yến 2%	13,34	14,31	12,30
	Tổ yến 2% + Dịch chiết gừng 2,5%	53,57	48,87	55,41

24	Nước	18,22	15,63	16,82
	Dịch chiết gừng 2,5%	25,09	23,57	27,13
	Tổ yến 2%	27,46	29,25	27,45
	Tổ yến 2% + Dịch chiết gừng 2,5%	70,27	70,76	74,41

Phụ lục 11. Kết quả tỉ lệ khép vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người *in vitro* của tổ yến 2%, dịch chiết măng tây 2,5%, tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây 2,5%.

Thời gian xử lý (giờ)	Đối tượng kiểm tra	Tỉ lệ khép vết thương (%) so với thời điểm 0 giờ		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
12	Nước	6,92	3,13	3,71
	Dịch chiết măng tây 2,5%	16,44	14,23	14,91
	Tổ yến 2%	23,06	19,01	21,26
	Tổ yến 2% + Dịch chiết măng tây 2,5%	40,06	38,26	40,88
24	Nước	17,04	13,50	16,27
	Dịch chiết măng tây 2,5%	28,17	29,66	38,74
	Tổ yến 2%	34,33	31,38	34,34
	Tổ yến 2% + Dịch chiết măng tây 2,5%	68,55	69,87	70,87

Số: 200 /QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 29 tháng 03 năm 2024

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/03/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 15/2014/TT-BGDĐT ngày 15/5/2014 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 775/QĐ-HVKHCN ngày 21/11/2016 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1982/QĐ-HVKHCN ngày 07/12/2020 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 2 năm 2020;

Căn cứ Quyết định số 1730/QĐ-HVKHCN ngày 20/10/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1325/QĐ-HVKHCN ngày 24/11/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 3 cho học viên Lê Thái Quang;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Công nghệ sinh học, Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Lê Thái Quang với đề tài: “Khảo sát hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi một số dịch chiết thực vật”.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ. Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký.

Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng Khoa Công nghệ sinh học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, MT.11.

GIÁM ĐỐC

GS.TS. Vũ Đình Lâm

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 250/QĐ-HVKHCN ngày 29/03/2024
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Cho luận văn của học viên: Lê Thái Quang

Tên đề tài: Khảo sát hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi một số dịch chiết thực vật.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Người hướng dẫn: 1. TS. Nguyễn Thị Khoa

- Viện Kỹ thuật công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

2. TS. Nguyễn Hoàng Dũng

- Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS. TS. Nguyễn Thị Phương Thảo	Sinh học	Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Đặng Thanh Dũng	Công nghệ sinh học	Trường Đại học Mở TP. HCM, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 1
3.	TS. Nguyễn Dương Tâm Anh	Hóa sinh học	Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP.HCM	Phản biện 2
4.	TS. Bùi Đình Thạch	Sinh lý học thực vật	Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5.	TS. Phan Tường Lộc	Hóa sinh học	Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên

(Hội đồng gồm 05 thành viên)./.

TP. HCM, ngày 11 tháng 04 năm 2024

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 200/QĐ-HVKHCN ngày 29/03/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Lê Thái Quang

Tên đề tài: Khảo sát hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi một số dịch chiết thực vật.

Ngành/Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Hôm nay, ngày 11/04/2024 Hội đồng đã họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 08h 30, Hội đồng gồm 05 thành viên:

- | | |
|-----------------------------------|-------------------|
| 1. PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo | Chủ tịch hội đồng |
| 2. TS. Bùi Đình Thạch | Thư ký hội đồng |
| 3. PGS.TS. Đặng Thanh Dũng | Phản biện 1 |
| 4. TS. Nguyễn Dương Tâm Anh | Phản biện 2 |
| 5. TS. Phan Tường Lộc | Ủy viên hội đồng |

Thành viên vắng mặt: 01 (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ).

NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1:

Đề tài có tính cấp thiết, nội dung và phương pháp luận phù hợp với mức độ đề tài, bài sung danh mục chi tiết, tài liệu sung phụ lục, căn bản rõ ràng, đầy đủ các tài liệu cấp tiến, nội dung lý luận phân



6. Phản biên 2;

Các kết quả để tái phân hợp với môi trường để ra
các phụ phẩm như: nước, carbon dioxide, thiêu đốt, nước tiểu, phân
và nước bọt, phân, nước...

7. Học viên trả lời:

Để tái cơ thể hình hoạt động, lấy oxy của tự do
chưa được như sự tự do phân
và oxy của oxy, di chuyển (từ c và k) để oxy
đang hoạt động lấy oxy của và tyrosine của
đưa đến phân...

8. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

Thần giao và như để sự tự do hoạt động protease có
gây nên tử vong cho protein tự nhiên hay?

9. Học viên trả lời

Thần giao và như để sự tự do có ảnh hưởng đến protein
tự do tự nhiên, ảnh hưởng của biến tử này được
khoa học qua môi trường.

10. Hội đồng hợp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: PGS.TS. Đặng Thanh Dung

Ủy viên: TS. Nguyễn Đình Tâm Anh

Ủy viên: TS. Đào Đình Thế

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 04

Số phiếu thu về: 04

Tổng số điểm: 33,56

Điểm trung bình: 8,39

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: ... 8,39

- Kết luận của Hội đồng:

+ Luận văn Đạt (đạt/không đạt yêu cầu)

+ Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công trình công bố:
..... Chưa vi phạm tính độc lập và tên đề tài
với các công trình công bố

11. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

..... Chuẩn bị theo các gợi ý chi tiết (Văn
bản gửi kèm) của các thành viên hội đồng


Buổi họp đã kết thúc vào .. 12 .. giờ .. 30 .. phút ngày .. 11 / 04 / 2024

TP.HCM, ngày 11 tháng 04 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG


Bùi Đình Thanh

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG





XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC




Nguyễn Thị Trung

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: Đặng Thanh Dũng Học hàm, học vị: PGS-TS.....

Chức danh trong Hội đồng: Phản biện 1.....

Cơ quan công tác: Trường ĐH Mở TPHCM.....

Họ và tên học viên: Lê Thái Quang.....

Tên đề tài: KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SẢN PHẨM TỔ YẾN THUYẾT PHÂN BỞI MỘT SỐ DỊCH CHIẾT THỰC VẬT.....

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm. Mã số: 8 42 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Như đã biết tổ yến là thực phẩm dinh dưỡng đã được sử dụng rất phổ biến. Tuy nhiên phương pháp chung tổ yến truyền thống không giúp tổ yến tan hoàn toàn, phần lớn protein tổ yến sau khi chung vẫn có khối lượng phân tử rất lớn và cấu trúc không gian phức tạp. Điều này có thể gây ra tình trạng khó tiêu, khó hấp thu ở những người có hệ tiêu hoá kém như người bệnh, người già và trẻ em. Do đó, các giá trị dinh dưỡng và dược lý của tổ yến không được tận dụng hết. Trong nghiên cứu này, tác giả sử dụng dịch chiết tự nhiên từ đu đủ, gừng và măng tây giúp phân cắt protein tổ yến ra thành các phân tử có kích thước nhỏ hơn và giải phóng các peptide hoạt tính. Vì vậy, sản phẩm tổ yến thủy phân có thể có các hoạt tính sinh học được tăng cường như khả năng kháng oxy hoá, chống lão hoá, làm trắng da, thúc đẩy tế bào tăng sinh, thúc đẩy tế bào xương biệt hoá, hạ huyết áp và chống virus cúm. Do đó, đề tài KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SẢN PHẨM TỔ YẾN THUYẾT PHÂN BỞI MỘT SỐ DỊCH CHIẾT THỰC VẬT có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài không có sự trùng lặp so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; đề tài có tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.....

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Đề tài phù hợp với chuyên ngành và mã số đào tạo. Tuy nhiên, tên đề tài có thể cụ thể “KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SẢN PHẨM TỔ YẾN THUY PHÂN BỞI DỊCH CHIẾT TỪ ĐU ĐÚ, GỪNG VÀ MĂNG TÂY” (nếu có thể)

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Đề tài chủ yếu sử dụng các phương pháp sinh hóa:

- Phương pháp Anson xác định hoạt tính protease tổng của dịch chiết thực vật.
- Phương pháp chạy điện di SDS PAGE để khảo sát khả năng thủy phân tổ yến của dịch chiết thực vật ở các điều kiện khác nhau về nồng độ dịch chiết, nhiệt độ và thời gian thủy phân.
- Phương pháp ABTS đánh giá khả năng kháng oxy hóa của sản phẩm tổ yến sau khi được thủy phân bằng dịch chiết thực vật.
- Phương pháp ức chế hoạt tính enzyme tyrosinase.
- Phương pháp nuôi cấy và quan sát tế bào để kiểm tra hoạt tính làm lành vết thương in vitro của sản phẩm tổ yến thủy phân bằng các dịch chiết thực vật
- Phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS) để kiểm tra hàm lượng acid sialic tự do.

Các phương pháp đều có tài liệu tham khảo nên độ tin cậy cao và phù hợp với nội dung luận văn.....

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Từ những mục tiêu đề ra, đề tài đã thu được những kết quả:

- Đã xác định được đơn vị hoạt tính xúc tác (U/ml) của các dịch chiết từ đu đủ, gừng và măng tây.
- Sản phẩm tổ yến thủy phân bởi dịch chiết đu đủ và dịch chiết gừng đều thể hiện hoạt tính kháng oxy hoá cao hơn tổ yến chưa thủy phân ở tất cả nồng độ dịch chiết. Trong khi đó, sản phẩm tổ yến thủy phân bằng dịch chiết măng tây có khả năng kháng oxy hoá không khác biệt so với tổ yến chưa thủy phân ở tất cả các nồng độ được kiểm tra.

- Kết quả nghiên cứu cho thấy cả ba loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đều có tiềm năng tạo sản phẩm tổ yến thủy phân với khả năng ức chế enzyme tyrosinase cao.
 - Khả năng hỗ trợ làm lành vết thương trên mô hình nguyên bào sợi người của các sản phẩm thủy phân tổ yến bằng ba loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây.
 - Cả ba loại dịch chiết đu đủ, gừng và măng tây đều tăng cường hàm lượng acid sialic tự do trong sản phẩm tổ yến thủy phân.
- Đây là những kết quả đạt được từ những thực nghiệm có tính khoa học cao phù hợp với mục tiêu đề ra.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung, hình thức và câu hỏi:

- Canh lề các hình 1.4, bảng 1.1
- Font chữ ở các hình, các bảng nên thống nhất, có lúc thì nhỏ, có lúc thì lớn...
- Học viên muốn nói lên vấn đề gì ở hình 1.5, khi đưa hình này vào cần phải diễn giải trong phần text.
- Trang 17 cần chuyên ý để thấy được ưu điểm của protease có nguồn gốc từ thực vật so với protease có nguồn gốc từ vsv. (protease từ thực vật chủ yếu là protease tự nhiên).
- Tổng quan cần thêm thông tin về: đu đủ, gừng, măng tây cũng như thông tin của protease từ những thực vật này (lợi ích sử dụng cũng như những khuyến cáo khi sử dụng)
- Chưa thấy kết luận ở phần tổng quan, cần kết luận để đi đến mục đích của đề tài.
- Mục 1.2.5.3-1.2.5.7: Một là thêm thông tin, hai là gom lại
- Chương 2: chỉ cần Vật liệu và ppnc
- Các hoá chất được sử dụng được sản xuất tại hãng Sigma (Đức), Trung Quốc hoặc Việt Nam sản xuất → phải liệt kê cụ thể
- 2.1.2. Thiết bị và hoá chất → Hóa chất và thiết bị
- Trang 22, định nghĩa U, 1 mol tyrosine (181 mg) là sai, vì 1 mol phải là 181 g.
- Đưa TLTK vào Phần trăm ức chế enzym tyrosinase được tính theo công thức sau cũng như những phương trình khác:
- Trang 28, thảo luận ở phần hoạt tính protease không chặt chẽ, không nên đem quả su su vào so sánh mà nên so sánh ở 3 loại mình làm.
- Hình 3.1 những gel khác nhau phải để xa nhau 1 chút không được ghép dính lại

- Kết quả trình bày khiến người đọc cảm thấy khó chịu khi mà trình bày theo thứ tự nồng độ dịch chiết từ cao đến thấp.

- Bảng 3.2 3.3 và 3.4 trình bày chưa rõ ràng nên gộp lại thành 1, cũng như các bảng 3.5, 3.6, 3.7...

- Font chữ ở các hình, các bảng nên thống nhất, có lúc thì nhỏ, có lúc thì lớn...

- Thêm kết quả thô của các thí nghiệm vào phần phụ lục

- KẾT QUẢ KIỂM TRA KHẢ NĂNG LÀM LÀNH VẾT THƯƠNG IN VITRO Trên mô hình nguyên bào sợi người nên để phần cuối cùng của các kết quả thí nghiệm.

Câu hỏi: tại sao dịch chiết đu đủ và măng tây có hoạt tính protease gấp 2 lần so với gừng, nhưng khi kháng oxy hóa thì chỉ có đu đủ gừng là tốt, bạn giải thích là “Nguyên nhân của hiện tượng này có thể do vị trí cắt đặc hiệu của các protease trong dịch chiết gừng chủ yếu tác động đến các amino acid có khả năng kháng oxy hoá cao”. Như vậy học viên có dùng các dịch chiết để khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa chưa?

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Có thể

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Luận văn đạt yêu cầu của một luận văn thạc sĩ sau khi đã hoàn thành chỉnh sửa các góp ý

TP. HCM., ngày 09 tháng 04 năm 2024

Người nhận xét

(Ký, ghi rõ họ tên)



Đặng Thanh Dũng



BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: Nguyễn Đình Tâm Anh..... Học hàm, học vị: TS.
Chức danh trong Hội đồng: Phó hiệu trưởng.....
Cơ quan công tác: Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.....
Họ và tên học viên: Lê Thái Quang.....
Tên đề tài: Khảo sát hoạt tính sinh học của sản phẩm tế bào
thủy phân từ một số dịch chiết thực vật.....
Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm. Mã số: 8 42 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Phương pháp thủy phân giải độc tế bào khác nhau đã tăng cường
điều tính của nguồn thực phẩm quý này đang rất được quan tâm
và có giá trị ứng dụng thực tiễn lớn. Việc sử dụng tế bào thủy
phân sinh học từ thực vật có giá trị khoa học.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn
đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài
liệu tham khảo:

Không trùng lặp với các nghiên cứu đã công bố
Tài liệu tham khảo quá nhiều, cần chặt lọc lại với tính
cập nhật mới nhất

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và
mã số đào tạo:

Phù hợp



4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Phương pháp nghiên cứu hiện đại, thường qui, đáng tin cậy

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Xác định được hoạt độ protease của dịch ep. du. đũa, giông và mông tay; đánh giá khả năng trung hòa gốc tự do ROS của dịch gạc thủy phân bởi dịch ep. du. đũa, giông và mông tay; xác định được khả năng ức chế enzyme tyrosinase của dịch gạc thủy phân; xác định được khả năng tăng sinh tế bào nguyên bào sê của dịch gạc thủy phân; định lượng được lượng acid sialic tự do tăng dịch gạc thủy phân.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung, hình thức và câu hỏi:

Hình thức: bổ sung bảng danh mục chữ viết tắt
Nội dung: bổ sung thông tin protease của du. đũa, giông và mông tay, các phương pháp nghiên cứu hoạt tính sinh học; mô tả chi tiết đặc tính của nguyên liệu (các nguồn thu enzyme (b. 2c)) (phần tiếp theo ở trang sau)

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Được

Tamank

- Bổ sung ET tính hoạt độ enzyme. Định nghĩa hoạt độ enzyme sai (tr. 22).
- Làm rõ (chất nền) dung dịch tế yeast 2% (tr. 22). Cần làm rõ thể tích phản ứng thủy phân (tr. 22). Liệu có tan trong nước không?
- Nên dùng "trung hòa" thay cho "ức chế" trong phản ứng ABIS. Liệt kê rõ các mẫu làm thí nghiệm trong phản ứng ABIS (tr. 23), liệt kê rõ các mẫu thí nghiệm trong phản ứng ức chế enzyme tyrosinase (tr. 24)
- Xác định pH trong các phản ứng thủy phân. yeast
- Bổ sung sự so sánh hoạt tính protease của các dịch chiết trong nghiên cứu này với các n/c đã có sẵn (tr. 27)
- Tại sao dùng nồng độ yeast 2%? Trong quá trình thủy phân ở các điều kiện khác nhau, có phản ứng yeast không tan không?
- Liệu liên hệ UI với các nồng độ dịch chiết thực vật có tính toàn chức không? Có các định hiệu quả thủy phân trong n/c này không?
- Có kiểm soát pH trong các phản ứng thủy phân không?
- Cần trình bày hoạt tính kháng oxy hóa ABIS và ức chế tyrosinase của riêng các dịch chiết thực vật ở các nồng độ tương ứng.
- Vai trò của Vit C và Kojic có ý nghĩa gì trong nghiên cứu này?
- Bổ sung dữ liệu khả năng kháng oxy hóa và khả năng ức chế tyrosinase ở các bảng 3.2 → 3.7, giải thích tế yeast với các nồng độ dịch chiết là gì?
- Các mẫu dịch chiết khi thử nồng độ như các chứng âm có bất hoạt bằng nhiệt độ không?
- Bổ sung công thức tính độ kết tủa (%)

Yamak

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ đề nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

.....
.....
.....
.....
.....

TPHCM, ngày 11. tháng 4. năm 2024

Người nhận xét
(Ký, ghi rõ họ tên)



Nguyễn Dương Tâm Anh

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: CV. Nguyễn Thị Minh Tâm phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT02438689977- 0946082099



**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Lê Thái Quang

Lớp: BIO20B-2

Tên đề tài luận văn: Khảo sát hoạt tính sinh học của sản phẩm tổ yến thủy phân bởi một số dịch chiết thực vật.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8420114

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thị Khoa

TS. Nguyễn Hoàng Dũng

Ngày bảo vệ luận văn: 11/04/2024

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Bổ sung Danh mục chữ viết tắt	Danh mục các ký hiệu và chữ viết tắt đã được bổ sung ở trang vi
2	Bổ sung Phụ lục	Phần Phụ lục đã được bổ sung thêm vào cuối luận văn
3	Cần làm rõ hoạt tính sinh học của dịch ép trước khi xử lý thủy phân	Thông tin mô tả đặc điểm các loại trái cây dùng để thu dịch ép đã được bổ sung vào mục 2.1.1. Nguyên vật liệu ở trang 19



4	Các phương pháp thực hiện cần bổ sung cụ thể điều kiện thí nghiệm	Các phương pháp thực hiện thí nghiệm đã được chỉnh sửa diễn giải cụ thể hơn trong nội dung của mục 2.2. Phương pháp nghiên cứu ở trang 21
5	Viết gọn phần kết luận	Phần 4.1. Kết luận đã được chỉnh sửa gọn hơn ở trang 54

Hà Nội, ngày 22 tháng 05 năm 2024

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN



PGS.TS.
Nguyễn Thị Phương Thảo



TS.
Nguyễn Thị Khoa



TS.
Nguyễn Hoàng Dũng



Lê Thái Quang

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO



**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung

