

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Hoàng Thị Trang Nguyên

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP, ĐẶC TÍNH CẤU TRÚC VÀ
HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA HẠT VI NANG
CARRAGEENAN-LECTIN TỪ RONG ĐỎ**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Vật liệu cao phân tử và tổ hợp

Mã số: 9440125

Hà Nội - 2025

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

Người hướng dẫn khoa học 1: TS. Lê Đình Hùng

Người hướng dẫn khoa học 2: PGS.TS. Thành Thị Thu Thủy

Phản biện 1: ...

Phản biện 2: ...

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ... giờ...', ngày ... tháng ... năm 2025

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Ở Việt Nam, rong đỏ loài Carrageenophyte đã được nuôi trồng rộng rãi hoặc thu hoạch tự nhiên là nguồn thu nhập cho các hộ dân ven biển, và là nguồn nguyên liệu cho lectin và carrageenan. Tuy nhiên, để nâng cao khả năng sử dụng cũng như giá trị kinh tế của các rong này, việc nghiên cứu các sản phẩm mới từ rong đỏ carrageenophyte là rất cần thiết, đặc biệt là các dẫn xuất carboxymethyl từ carrageenan của rong đỏ. Điều này đã dẫn dắt nghiên cứu sinh tiến hành thực hiện luận án: “**Nghiên cứu tổng hợp, đặc tính cấu trúc và hoạt tính sinh học của hạt vi nang carrageenan – lectin từ rong đỏ**”, với mục đích hướng đến phát triển nguồn rong đỏ cũng như nguồn vật liệu sinh học cho sử dụng trong thực phẩm và y học.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Đánh giá được hoạt tính ngưng kết hồng cầu của lectin chiết tách từ 2 đối tượng rong đỏ loài *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus*.
- Xác định được đặc trưng cấu trúc carrageenan chiết tách từ rong đỏ *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus*.
- Tổng hợp được dẫn xuất carboxymethyl-carrageenan, phân tích đặc trưng cấu trúc của dẫn xuất carboxymethyl-carrageenan.
- Chế tạo được hạt vi nang carboxymethyl-carrageenan bao gói lectin, phân tích đặc trưng cấu trúc của hạt, đánh giá sự giải phóng lectin từ hạt vi nang.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Đầu tiên chiết tách và tinh chế lectin từ rong đỏ *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus*, xác định hoạt tính của các lectin này.
- Thu bã rong sau khi chiết lectin, tiến hành chiết carrageenan từ bã rong, nghiên cứu đặc trưng cấu trúc của carrageenan từ rong đỏ *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus*.

-Tổng hợp và nghiên cứu đặc trưng cấu trúc dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan từ kappa-carrageenan có nguồn gốc từ rong đỏ *Kappaphycus striatus*.

- Nghiên cứu tạo hạt vi nang carboxymethyl-carrageenan bao gói lectin từ rong *Kappaphycus striatus*, xác định đặc trưng cấu trúc và hoạt tính của hạt vi nang.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN VĂN

1. Đây là công trình nghiên cứu khoa học đầu tiên ở Việt Nam thu nhận tích hợp lectin và carrageenan từ hai đối tượng rong đỏ: *Kappaphycus striatus* được trồng tại vịnh Vân Phong tỉnh Khánh Hòa và *Betaphycus gelatinus* được thu hoạch tự nhiên tại vùng biển Ninh Thuận (nay là Khánh Hòa). Luận án đã phân tích đặc tính cấu trúc và hoạt tính sinh học của các lectin và carrageenan chiết tách từ các rong đỏ *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus*:

- Thành phần của carrageenan từ rong đỏ *Kappaphycus striatus* chủ yếu là kappa-carrageenan, trong khi đó thành phần hóa học của carrageenan từ rong *Betaphycus gelatinus* là carrageenan lai hóa bao gồm beta-carrageenan và kappa-carrageenan

- Carrageenan và dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan từ rong đỏ được xác định có hoạt tính ngưng kết hồng cầu và hoạt tính chống oxy hóa.

2. Lần đầu tiên tổng hợp dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan từ kappa-carrageenan của rong đỏ *Kappaphycus striatus* nuôi trồng tại vịnh Vân Phong tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam. Dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan của kappa-carrageenan từ rong đỏ với tính chất trương nở phụ thuộc vào sự thay đổi của môi trường pH có tiềm năng ứng dụng của trong việc tạo các chất mang bọc các chất có hoạt tính sinh học trong y học.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về rong đỏ

1.1.1. Rong đỏ

Rong đỏ gồm các loài *Kappaphycus alvarezii*, *Kappaphycus striatus*, *Eucheuma denticulatum* và *Betaphycus gelatinus* là những loài rong quan trọng về mặt kinh tế và được trồng rộng rãi hoặc thu hoạch tự nhiên ở Việt Nam, không chỉ là nguồn lectin giá trị mà còn là nguồn carrageenan để sử dụng trong thực phẩm, mỹ phẩm và làm chất mang trong dược phẩm.

1.1.2. Loài *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus*

Bảng 1.2. Hệ thống phân loại rong *K. striatus* và *B. gelatinus*

Rong	<i>Kappaphycus striatus</i>	<i>Betaphycus gelatinus</i>
Giới	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>
Ngành	<i>Rhodophyta</i> , Wettstein	<i>Rhodophyta</i> , Wettstein
Lớp	<i>Florideophyceae</i> , Cronquist	<i>Florideophyceae</i> , Cronquist
Bộ	<i>Gigartinales</i> , F. Schmitz	<i>Gigartinales</i> , F. Schmitz
Họ	<i>Solieriaceae</i> , J. Agardh	<i>Solieriaceae</i> , J. Agardh
Chi	<i>Kappaphycus</i> , Doty	<i>Betaphycus</i>
Loài	<i>K. striatus</i> (F. Schmitz, 1895) Doty ex P.C. Silva, 1996	<i>Betaphycus gelatinus</i> (Esper) Doty ex P. C. Silva 1996

1.2. Carrageenan từ rong đỏ

1.2.1. Cấu trúc của carrageenan

Cấu trúc carrageenan bao gồm chủ yếu các gốc D-galactose mà chúng hình thành các disaccharide lặp lại qua liên kết 3- β -D-galactopyranose và liên kết 4- α -D-galactopyranose.

1.2.2. Tính chất hóa lý, hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của carrageenan

1.2.2.1. Tính chất hóa lý và hoạt tính sinh học của carrageenan

Các carrageenan sở hữu nhiều hoạt tính như kháng virus cúm A (H1N1), kháng ung thư, giảm cholesterol, chống oxy hóa.

1.2.2.2. Khả năng ứng dụng của carrageenan

Carrageenan được ứng dụng trong các công thức dược phẩm, bao gồm dạng thuốc viên, màng bọc, hạt chèn hòa tan nhanh (FDI), dạng vi hạt, hệ thuốc hít vào, thuốc tiêm và hydrogel. Có thể biến tính carrageenan chẳng hạn như nhóm carboxyl ($-\text{COOH}$) trên chuỗi phân tử carrageenan để tạo chất mang có hiệu quả cao trong các hệ phân phối các hoạt chất chất, ngăn sự giải phóng các hoạt chất sớm, hoặc bị thoái hóa khi vận chuyển thuốc qua dạ dày và kiểm soát sự giải phóng thuốc tại vị trí đích.

1.3. Lectin từ rong đỏ

1.3.1. Cấu trúc của lectin

Rong đỏ gồm các loài *K. alvarezii*, *K. striatus*, *E. denticulatum*, và *B. gelatinus* không chỉ là nguồn carrageenan cho công nghiệp thực phẩm, mà còn là nguồn lectin giá trị để sử dụng trong y học.

1.3.2. Hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của lectin từ rong đỏ

1.3.2.1. Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của lectin từ rong đỏ:

Hầu hết các lectin từ rong đỏ dễ dàng ngưng kết với hồng cầu của thỏ và cừu hơn hồng cầu của nhóm máu người (ABO).

1.3.2.2. Khả năng ứng dụng của lectin từ rong đỏ

Lectin từ rong đỏ có đặc tính liên kết carbohydrate và cấu trúc đa dạng, nên chúng có tiềm năng ứng dụng trong y học để kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus, kháng ung thư, chẩn đoán và điều trị chọn lọc các loại bệnh này.

1.4. Hạt vi nang carrageenan từ rong đỏ

1.4.1. Hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của hạt vi nang carrageenan từ rong đỏ

Các thành phần chính của polysaccharide từ rong biển là carrageenan, agar hoặc alginate có tiềm năng ứng dụng trong các hệ phân phối thuốc như chống viêm, chống ung thư.

1.4.2. Phương pháp chế tạo hạt vi nang carrageenan

Phương pháp gel hóa ion đã được ứng dụng tạo hạt vi nang polysaccharide từ rong biển như carrageenan để bọc insulin hoặc lectin.

1.5. Tình hình nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam liên quan đến nội dung nghiên cứu luận án

1.5.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Carrageenan từ rong đỏ được ứng dụng làm tá dược và các dạng chất mang khác nhau như hạt nano, vi nang, vi cầu, hạt và công thức hydrogel.

1.5.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

Đã có nhiều công bố tách chiết và phân tích các lectin từ rong đỏ từ TS. Lê Đình Hùng và cộng sự (2009- 2021). Các lectin có liên kết N-glycan dạng high-mannose và có cấu trúc tương tự với các đặc tính liên kết N-glycan dạng high-mannose và cấu trúc của các lectin kháng ung thư và virus (HIV, SARS-CoV và influenza-cúm) đã được công bố trên thế giới.

Có nhiều công trình nghiên cứu quy trình thu nhận và tinh chế carrageenan từ rong đỏ, chủ yếu cho các ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm. Tuy nhiên hầu như chưa có công bố nào về nghiên cứu các dẫn xuất từ carrageenan như carboxymethyl-kappa-carrageenan và khả năng ứng dụng của nó trong thực phẩm hoặc y học. Việc nghiên cứu tạo hạt vi nang từ dẫn xuất carboxymethyl-carrageenan bao gói lectin từ rong đỏ rất thiết thực.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

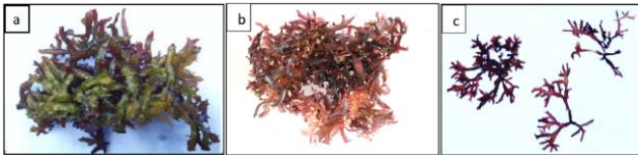
2.1. Đối tượng nghiên cứu

Rong đỏ *Kappaphycus striatus* “sacol” chủng nâu (F. Schmitz) Doty ex P. C. Silva được thu thập tại Vịnh Vân Phong (120°29' Bắc, 109°10' Đông), tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam vào tháng 08/2020 đến tháng 03/2021.



Hình 2.2. Rong *K. striatus*: a) rong tươi, b) rong khô, c) tiêu bản.

Rong đỏ *Betaphycus gelatinus* chủng (Esper) Doty ex P. C. Silva được thu thập tại tỉnh Ninh Thuận (11°35' Bắc, 109°02' Đông) (nay là Khánh Hòa), Việt Nam trong khoảng thời gian tháng 04 đến tháng 06/2022.



Hình 2.3. Rong *B. gelatinus*: a) rong tươi, b) rong khô, c) tiêu bản.

Thời gian thực hiện luận án: 01/2021-12/2024 tại Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang nay là Viện Hải dương học.

2.2. Chiết tách, tinh chế lectin và carrageenan từ rong đỏ

2.2.1. Chiết tách và tinh chế và xác định hàm lượng protein của lectin

Đầu tiên lectin được chiết từ rong đỏ, sau đó chiết carrageenan từ bã rong. Lectin được chiết và tinh chế theo phương pháp của Lê Đình Hùng và cộng sự, 2011, 2015a. Bã rong được phơi khô có dạng bột, được giữ ở -20°C, sau đó dùng để chiết carrageenan.

2.2.2. Chiết tách và tinh chế carrageenan

Từ bã rong thu được sau khi chiết tách lectin, carrageenan được chiết xuất theo phương pháp tự nhiên của Craigie and Leigh, 1978 và phương pháp xử lý kiềm của Ohno, 1994.

2.3. Chế tạo hạt vi nang carrageenan – lectin và đánh giá sự giải phóng lectin từ hạt vi nang carrageenan – lectin

2.3.1. Tổng hợp dẫn xuất carboxymethyl-carrageenan

Quá trình carboxymethyl hóa của carrageenan sử dụng quy trình tổng hợp ether của Williamson

2.3.2. Chế tạo hạt vi nang carrageenan – lectin

Sử dụng phương pháp gel hóa ion theo O. Sipahigil và cộng sự, 2001 và K.H. Leong và cộng sự, 2011b để tạo hạt vi nang bao gói lectin.

2.3.3. Xác định sự giải phóng lectin từ hạt vi nang carrageenan-lectin

Đánh giá mức độ giải phóng lectin từ hạt vi nang polysaccharide-lectin bằng phương pháp UV-Vis đo độ hấp thụ quang của protein ở bước sóng 280 nm của Harold Edelhoch, 1967.

2.4. Xác định thành phần hóa học và đặc trưng cấu trúc của carrageenan, carboxymethyl-carrageenan và hạt vi nang carrageenan-lectin

2.4.1. Xác định thành phần hóa học của carrageenan, carboxymethyl-carrageenan

Trọng lượng phân tử (MW) của carrageenan và các dẫn xuất carboxymethyl hóa của chúng được xác định bằng sắc ký thẩm thấu gel (Shimadzu LC-20AD, Nhật Bản). Hàm lượng 3,6-anhydrogalactose trong polysaccharide được xác định bằng phương pháp resorcinol của Yaphe và Arsenault, 1965 sử dụng D-fructose làm chất chuẩn. Hàm lượng sulfate được xác định theo phương pháp Terho và Hartiala, 1972 sử dụng Na_2SO_4 làm chất chuẩn. Nhiệt độ tạo gel và nhiệt độ tan gel được xác định theo phương pháp của Craigie và Leigh, 1978 bằng cách sử dụng dung dịch 1,5%

carrageenan trong 0,2% KCl; Độ bền gel được đo theo phương pháp của Ohno và cộng sự (1994).

2.4.2. Xác định đặc trưng cấu trúc của carrageenan, carboxymethyl-carrageenan và hạt vi nang carrageenan – lectin

Xác định cấu trúc sử dụng phương pháp phổ hồng ngoại FT-IR và cộng hưởng từ hạt nhân NMR; xác định độ thay thế DS: bằng hai phương pháp: a) chuẩn độ điện thế và b) Phương pháp tính tích phân diện tích từ phổ ^1H NMR.

Xác định đặc trưng cấu trúc của hạt vi nang carrageenan – lectin: Kích thước và đặc tính bề mặt của hạt nang được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FE-SEM) HITACHI S – 4800.

2.5. Đánh giá hoạt tính sinh học và độ trương của carrageenan, carboxymethyl- carrageenan và hạt vi nang carrageenan-lectin

2.5.1. Xác định hoạt tính chống oxy hóa của carrageenan và dẫn xuất carboxymethyl-carrageenan

Hoạt tính chống oxy hóa được thử nghiệm theo phương pháp được mô tả theo Shimada và cộng sự, 1992.

2.5.2. Xác định hoạt tính ngưng kết hồng cầu của lectin, carrageenan và hạt vi nang carrageenan-lectin

Đánh giá hoạt tính ngưng kết hồng cầu của lectin, carrageenan và các mẫu KC-0/1 và CMKC-1/1÷5/1 và lectin từ hạt vi nang polysaccharide-lectin

2.5.3. Xác định độ trương của hạt carrageenan và các dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan

Độ trương của hạt carrageenan và các dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan được xác định theo phương pháp của K.H. Leong và cộng sự, 2011.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định thành phần hóa học, đặc trưng cấu trúc và đặc tính của lectin và carrageenan từ rong đỏ *Kappaphycus striatus*

3.1.1. Thành phần, đặc tính và cấu trúc của lectin từ rong đỏ *Kappaphycus striatus*

Bảng 3.2. Hàm lượng protein và hoạt tính NKHC của lectin chiết từ rong đỏ *K. striatus*

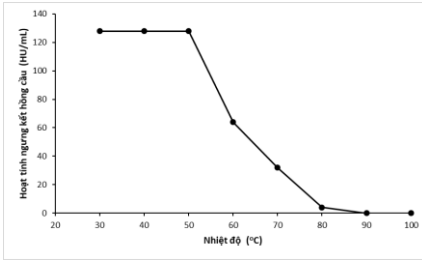
Lectin từ <i>K.striatus</i>	Dịch thô	Dịch sau kết tủa	Dịch sau SKLG
Thể tích (mL)	800	19,4	600
Protein (mg/mL)	1, 77	1,73	0,053
Protein tổng (mg)	1416,00	33,56	31,80
HA (HU/mL)	128	256	8
HTTS (HU)	102400	4996	4800
HTR (HU/mL)	72,31	148,87	150,95
LHC(μ g/mL)	16,39	6,76	6,63

HA: Hoạt tính của 1 mL dịch lectin; HTTS: Hoạt tính tổng số; HTR: Hoạt tính riêng LHC (Lowest hemagglutination concentration): nồng độ nhỏ nhất gây NKHC; SKLG: Sắc ký lọc gel.

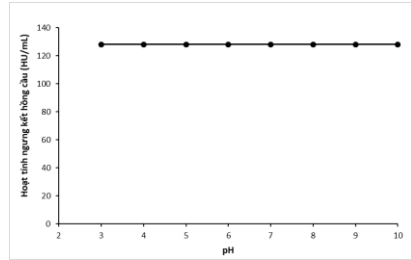
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các ion kim loại, nhiệt độ và khoảng pH đến hoạt tính NKHC của lectin.

Bảng 3.3. Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của cation hóa trị hai đến hoạt tính ngưng kết hồng cầu của lectin từ rong *K. striatus*.

Mẫu	Hoạt NKHC (HU/mL)	Hoạt NKHC (%)
Mẫu không kim loại	128	100
EDTA	128	100
Ca ²⁺	128	100
Mg ²⁺	128	100



Hình 3.1. Hoạt tính NKHC của lectin từ *K. striatus* thay đổi theo nhiệt độ.



Hình 3.2. Hoạt tính NKHC của lectin từ *K. striatus* ở các giá trị pH.

Đặc hiệu liên kết carbohydrate của lectin từ rong đỏ *K. striatus*:

Bảng 3.4. Nồng độ đường monosaccharide và glycoprotein nhỏ nhất có khả năng ức chế hoạt tính NKHC của các lectin từ rong đỏ *K. striatus*.

STT	Monosaccharide và Glycoprotein	Nồng độ nhỏ nhất
	<i>Monosaccharide</i>	C_{min} (mM)
1	Glucose	-
2	N-acetyl-D-glucosamine	-
3	D-galactose	-
4	N-acetyl-D- galactosamine	-
5	D-mannose	-
6	N-acetyl-D-manosamine	-
7	Xylose	-
8	N-acetyl neuraminic axit	-
	<i>Glycoprotein</i>	C_{min} ($\mu\text{g/mL}$)
9	Transferrin	-
10	Asialo-Transferrin	-
11	Fetuin	-
12	Asialo-Fetuin	31,2
13	Yeast mannan	7,8
14	Porcine thyroglobulin	7,8
15	Porcine stomach mucin	62,5
16	Asialo-porcine stomach mucin	62,5

Lectin từ rong đỏ *K. striatus* và cho thấy có liên kết đặc hiệu với N-glycan dạng high-mannose. Do đó các lectin có khả năng kháng các virus, mở ra các tiềm năng ứng dụng trong y học.

3.1.2. Thành phần, tính chất và đặc trưng cấu trúc của carrageenan từ rong đỏ *Kappaphycus striatus*

Carrageenan được chiết từ 2 phương pháp có sự khác biệt và thành phần và tính chất được thể hiện ở Bảng 3.5 và Hình 3.5.

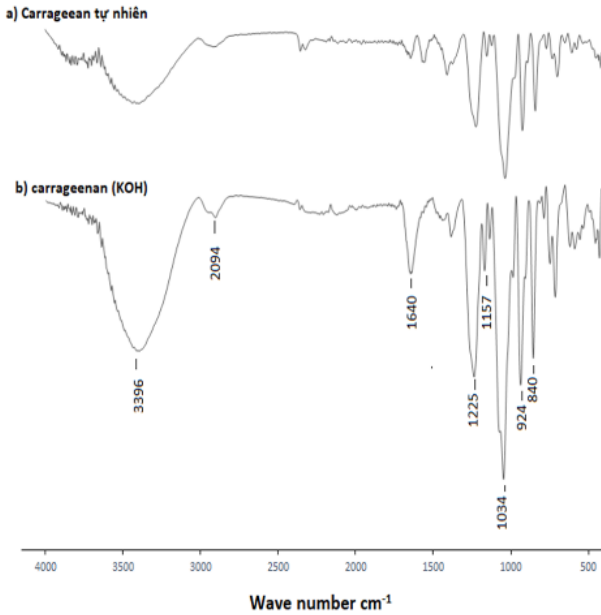
Bảng 3.5. Hàm lượng và thành phần của carrageenan được chiết từ rong *K. striatus*.

Thành phần	Carrageenan từ <i>K. striatus</i>
Phương pháp chiết carrageenan tự nhiên	
Hàm lượng carrageenan (% rong khô w/w)	$45,8 \pm 2,8$
Phương pháp chiết carrageenan xử lý kiềm	
Hàm lượng carrageenan (% rong khô w/w)	$31,3 \pm 3,5$
Hàm lượng DA (% carrageenan w/w)	$27,7 \pm 0,7$
Hàm lượng Sulfate (% carrageenan w/w)	$27,7 \pm 0,9$
Nhiệt độ tạo gel ($^{\circ}\text{C}$)	$44,5 \pm 0,5$
Nhiệt độ tan gel ($^{\circ}\text{C}$)	$61,5 \pm 0,5$
Độ bền gel (g/cm^2)	595 ± 10
MW (kDa)	$791 \pm 9,3$



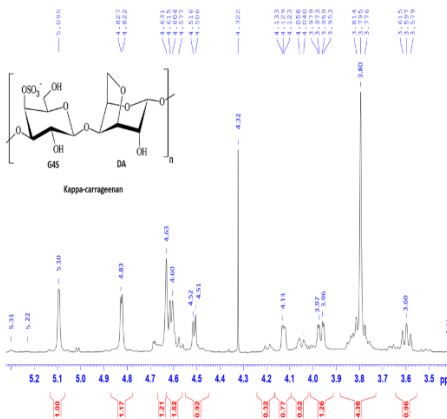
Hình 3.5. Hình ảnh carrageenan chiết tách từ rong *K. striatus* theo phương pháp tự nhiên và phương pháp xử lý kiềm.

Đặc trưng cấu trúc của carrageenan từ rong đỏ *K. striatus* được đánh giá dựa vào kết quả phân tích phổ hồng ngoại (FI-IR) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR. Quan sát phổ hồng ngoại (FT-IR) Hình 3.6 của polysaccharide từ rong đỏ *K. striatus* từ hai phương pháp chiết tự nhiên và chiết xử lý kiềm (KOH) cho thấy các dải hấp phụ điển hình của polysaccharide sulfate kappa-carrageenan.

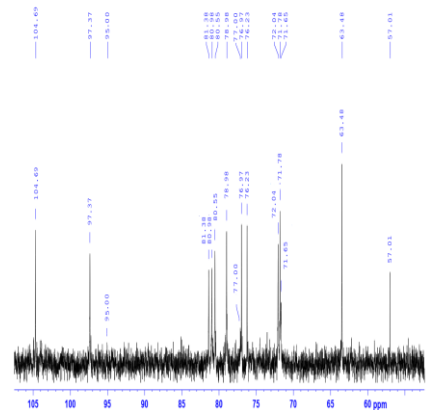


Hình 3.6. Phổ FT-IR của carrageenan từ rong *K. striatus*: a) carrageenan chiết tự nhiên, b) carrageenan chiết xử lý kiềm (KOH).

Kết quả phổ NMR của carrageenan từ rong *K. striatus*



Hình 3.7. Phổ ^1H NMR của carrageenan từ rong *K. striatus*.



Hình 3.8. Phổ ^{13}C NMR của carrageenan từ rong *K. striatus*.

Từ kết quả phân tích của phổ hồng ngoại FT-IR và phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR, xác định carrageenan chiết tách từ đối tượng rong *Kappaphycus striatus* nuôi trồng lại vịnh Vân Phong có chứa thành phần chủ yếu là kappa-carrageenan và một lượng nhỏ iota-carrageenan.

3.2. Kết quả xác định thành phần, tính chất và đặc trưng cấu trúc của lectin và carrageenan từ rong đỏ *Betaphycus gelatinus*

3.2.1 Thành phần và đặc tính của lectin từ rong đỏ *Betaphycus gelatinus*

Kết quả phân tích hàm lượng protein và hoạt tính NKHC của lectin chiết tách từ rong đỏ *B. gelatinus* được trình bày ở Bảng 3.8.

Bảng 3.8. Hàm lượng protein và hoạt tính NKHC của lectin chiết từ rong đỏ *B. gelatinus*.

Lectin từ <i>B.gelatinus</i>	Dịch thô	Dịch sau kết tủa	Dịch sau SKLG
Thể tích (mL)	1650	307,5	1320
Protein (mg/mL)	1, 31	1,26	0,034
Protein tổng (mg)	2161,50	386,86	44,88
HA (HU/mL)	64	256	8
HTTS (HU)	105600	78720	10560
HTR (HU/mL)	48,85	203,57	235,29
LHC(μ g/mL)	8,44	4,91	4,10

HA: Hoạt tính của 1 mL dịch lectin; HTTS: Hoạt tính tổng số; HTR: Hoạt tính riêng LHC (Lowest hemagglutination concentration): nồng độ nhỏ nhất gây NKHC; SKLG: Sắc ký lọc gel.

Đặc hiệu liên kết carbohydrate của lectin từ rong đỏ *Betaphycus gelatinus*

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của lectin từ rong đỏ *B. gelatinus* không bị ức chế bởi các monosaccharide và glycoprotein như transferrin, asialo-transferrin và fetuin. Đồng thời hoạt tính NKHC của các lectin từ rong đỏ *B. gelatinus* không bị ức chế bởi các glycoprotein như transferrin và fetuin. Lectin từ rong *B. gelatinus* cho thấy có liên kết đặc hiệu với N-

glycan dạng high-mannose, đây là tính chất quan trọng đến ứng dụng của lectin trong y học như kháng virus, kháng ung thư.

3.2.2. Thành phần, tính chất và đặc trưng cấu trúc của carrageenan từ rong đỏ *Betaphycus gelatinus*

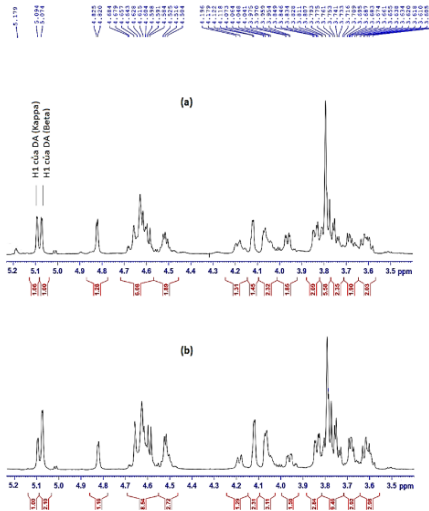
Kết quả phân tích thành phần cho biết các số liệu về hàm lượng carrageenan, hàm lượng 3,6-anhydro-D-galactose và sulfate của carrageenan được chiết từ rong *B. gelatinus* theo từng thời gian thu hoạch được tổng hợp. Nhận thấy có sự thay đổi nhỏ theo các tháng thu hoạch về hàm lượng carrageenan, hàm lượng 3,6-anhydro-D-galactose và sulfate.

Bảng 3.10. Hàm lượng và thành phần của carrageenan được chiết từ *B. gelatinus* theo từng thời gian thu hoạch.

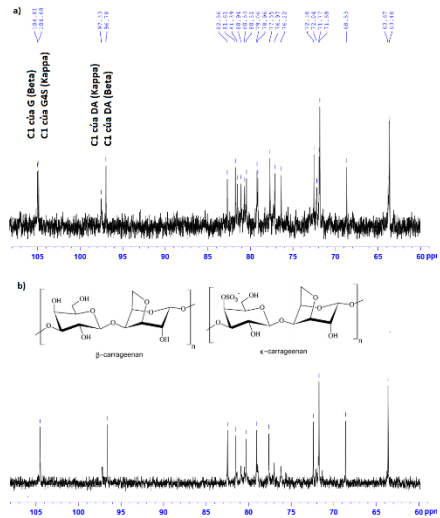
Tháng	Chiết tự nhiên			Chiết xử lý kiềm		
	Hàm lượng ^a	DA ^b	Sufate ^b	Hàm lượng ^a	DA ^b	Sufate ^b
Bốn	68,2±2,1	23,1±0,5	17,9±1,7	24,2±1,7	42,3±0,6	8,7±0,4
Năm	73,1±2,3	24,8±0,6	20,3±0,6	31,5±1,8	43,9±0,7	8,6±0,5
Sáu	68,4±2,2	23,4±0,4	20,0±0,7	23,7±1,6	41,6±0,6	8,8±0,5

^a tính trên % trọng lượng khô của rong, ^b tính trên % trọng lượng carrageenan, DA: 3,6-anhydro-D-galactose

Các kết quả phân tích FT-IR và NMR cho thấy polysaccharide từ *B. gelatinus* là một carrageenan lai hóa gồm beta-carrageenan và kappa-carrageenan, trong đó hàm lượng kappa-carrageenan tương đối thấp và khó tách riêng hai loại carrageenan này. Trong đề nghiên cứu này do thành phần không đồng nhất của carrageenan từ *B. gelatinus*, nên dẫn xuất carboxymethyl-carrageenan được tiến hành tổng hợp từ kappa-carrageenan chiết tách từ rong đỏ *K. striatus*.



Hình 3.10. Phổ ^1H NMR của carrageenan từ *B. gelatinus*: a) carrageenan chiết tự nhiên, b) carrageenan biến đổi kiềm (KOH).



Hình 3.11. Phổ ^{13}C NMR của carrageenan từ *B. gelatinus*: a) carrageenan chiết tự nhiên, b) carrageenan biến đổi kiềm (KOH)

3.3. Kết quả xác định đặc tính và đặc trưng cấu trúc của carboxymethyl-kappa-carrageenan và hạt vi nang carrageenan-lectin

3.3.1. Thành phần và tính chất của carboxymethyl-kappa-carrageenan

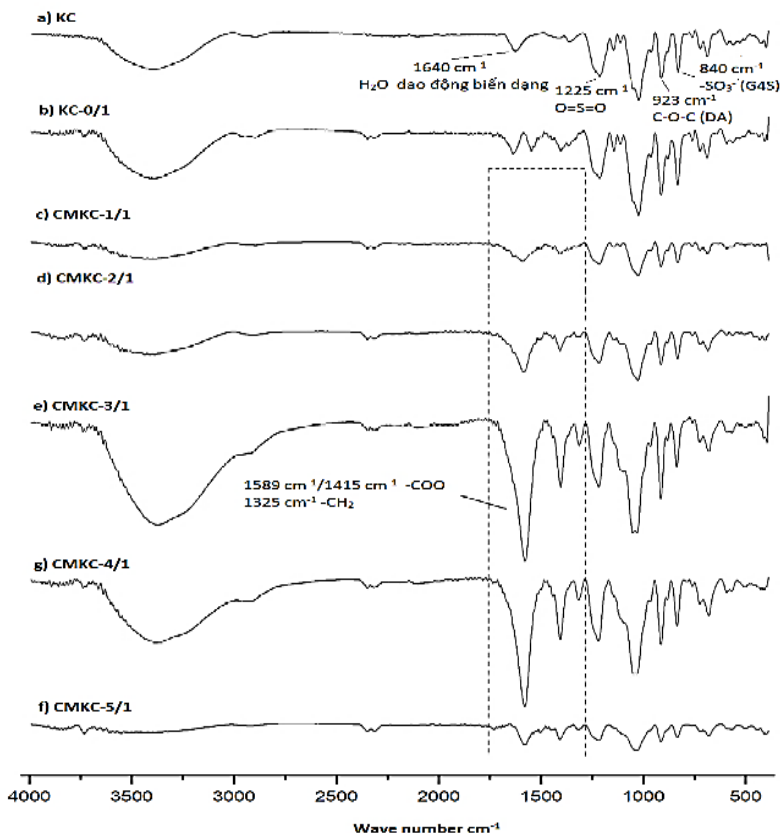
Bảng 3.12. Thành phần của các mẫu CMKC

Mẫu	DA (% w/w)	sulfate (%w/w)	MW (kDa)
KC-0/1	$28,5 \pm 0,8$	$23,9 \pm 0,7$	$747,4 \pm 8,3$
CMKC-1/1	$27,5 \pm 0,6$	$23,8 \pm 0,7$	$756,1 \pm 7,5$
CMKC-2/1	$26,2 \pm 0,6$	$23,7 \pm 0,6$	$772,8 \pm 7,3$
CMKC-3/1	$23,6 \pm 0,5$	$23,4 \pm 0,5$	$779,6 \pm 9,9$
CMKC-4/1	$19,5 \pm 0,4$	$22,5 \pm 0,5$	$775,0 \pm 6,2$
CMKC-5/1	$18,4 \pm 0,4$	$22,3 \pm 0,5$	$774,3 \pm 6,3$

DA: 3,6-anhydro-D-galactose; MW: trọng lượng phân tử trung bình xác định theo phương pháp sắc ký thẩm thấu gel. số liệu tính trung bình $\pm$ SEM ($n = 3$)

3.3.2. Đặc trưng cấu trúc của carboxymethyl-kappa-carrageenan từ rong *Kappaphycus striatus*

Kết quả phân tích phổ của các mẫu carboxymethyl-kappa-carrageenan so với mẫu kappa-carrageenan ban đầu được trình bày ở Hình 3.12. Sự hiện diện của ba dải mới cho thấy quá trình carboxymethyl hóa kappa-carrageenan đã thành công tạo carboxymethyl-kappa-carrageenan.

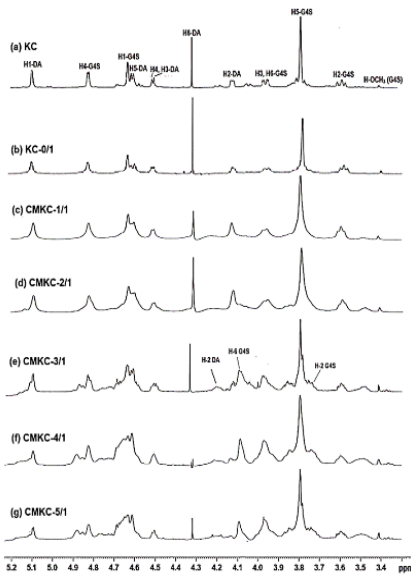


Hình 3.12. Phổ FT-IR của các mẫu carboxymethyl-kappa-carrageenan

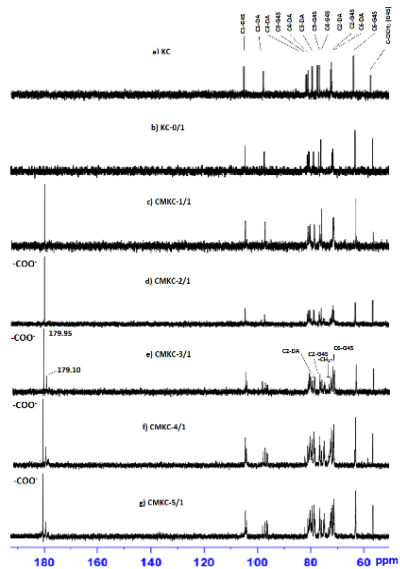
Giá trị độ thế DS được phân tích mang tính tương đối, và các giá trị DS đo được từ hai phương pháp có sự chênh lệch nhỏ. Độ thay thế (DS) được tính dựa vào phổ ^1H NMR dao động từ 0,24 đến 1,12. Sự thay thế tối đa đạt được ở tỷ lệ mol MCA/KC (3/1), với tỷ lệ mol cao hơn làm giảm DS. Nguyên

nhân của sự giảm DS ở tỷ lệ mol MCA/KC tăng cao (>3) là do phản ứng phụ từ natri monochloroacetate và NaOH, dẫn đến sự hình thành natri glycolate. Khi tăng tỷ lệ mol MCA/KC, nồng độ MCA tăng lên, làm giảm lượng NaOH phản ứng với KC để tạo thành ankoxide (do thể tích NaOH không đổi), dẫn đến giảm DS.

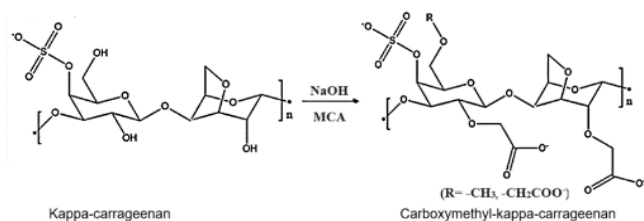
Trong số các phổ ^1H NMR của các mẫu CMKC, phổ CMKC-3/1 được chọn để thể hiện các đỉnh proton mới (Hình 3.13. e), do mức độ thay thế cao nhất. So sánh các giá trị độ chuyển dịch của KC ở Bảng 3.6, KC-0/1 ở Bảng 3.13, và mẫu CMKC-3/1 ở Bảng 3.13 cho thấy sự xuất hiện của các đỉnh proton mới và các đỉnh này không có trong phổ KC-0/1, chỉ ra rằng các nhóm hydroxyl của KC-0/1 đã được carboxymethyl hóa.



Hình 3.13. Phổ ^1H NMR của kappa-carrageenan và CMKC.



Hình 3.15. Phổ ^{13}C NMR của kappa-carrageenan và CMKC.

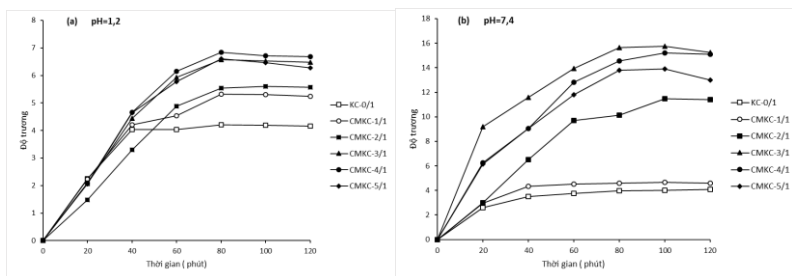


Hình 3.17. Tổng hợp carboxymethyl-kappa-carrageenan.

Quan sát phổ ^{13}C NMR ở Hình 3.15 cho thấy sự so sánh các dịch chuyển hóa học giữa các mẫu KC, KC-0/1 (Hình 3.15. a, b) và CMKC (Hình 3.15. c, d, e, f, g). Các tín hiệu đỉnh nổi bật xuất hiện ở $\delta = 179,95$ và $179,10$ ppm được biểu thị cho carbon của nhóm carboxylate (COO^-). Sự xuất hiện của tín hiệu từ $177,7 - 182,6$ ppm cũng đã được báo cáo đối với các nhóm thế carboxymethyl trong KC. Dựa trên tỷ lệ cường độ đỉnh của ^{13}C NMR và giá trị DS từ ^1H NMR chỉ ra rằng các nhóm hydroxyl trong KC-0/1 đã được carboxymethyl hóa thành công và khả năng phản ứng của các nhóm OH được sắp xếp theo thứ tự $\text{O-C2(G4S)} > \text{O-C6(G4S)} > \text{O-C2(DA)}$.

3.3.3. Xác định độ trương của hạt carrageenan và các dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan

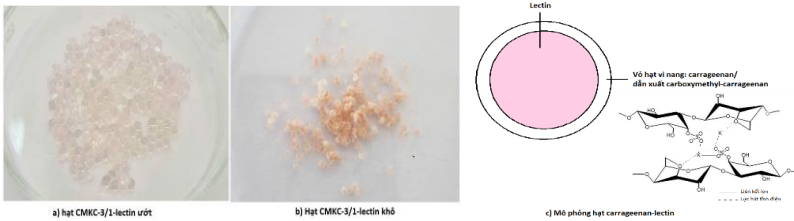
Các hạt CMKC-1/1 đến CMKC-5/ có độ trương thấp hơn ở môi trường $\text{pH}=1,2$ (từ 1,47 đến 6,84), và có độ trương cao hơn nhiều ở môi trường $\text{pH}=7,4$ (từ 2,97 đến 15,74). Sự thay đổi độ trương của các hạt CMKC khi thay đổi môi trường pH do sự có mặt của nhóm carboxymethyl trên KC



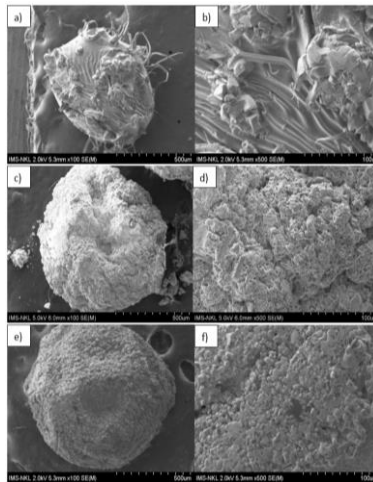
Hình 3.18. Độ trương của các hạt KC-0/1 và carboxymethyl-kappa-carrageenan (CMKC-1/1 đến CMKC-5/1) ở môi trường: (a) $\text{pH} = 1,2$, (b) $\text{pH} = 7,4$.

3.3.4. Đặc trưng cấu trúc của hạt vi nang carrageenan-lectin

Hạt nang vi nang kappa-carrageenan bao bọc lectin (Ký hiệu: KC-L) và carboxymethyl-kappa-carrageenan tỷ lệ 3/1 bao bọc lectin (Ký hiệu: CMKC-3/1-L) sau khi tạo có dạng hình cầu, trong suốt và có màu hồng của dịch lectin. Sau đó các hạt được làm khô, hạt có độ xốp, màu sắc của hạt có sự thay đổi đậm nhạt phụ thuộc vào tỉ lệ của polysaccharide và lectin. Sau khi sấy khô các hạt vi nang có dạng ít hình cầu hơn và có cấu trúc xốp.



Hình 3.19. Hạt vi nang CMKC-3/1-L dạng: a) hạt ướt, b) hạt sấy khô, c) mô phỏng hạt vi nang carrageenan-lectin. Nồng độ CMKC-3/1 là 3,0%.

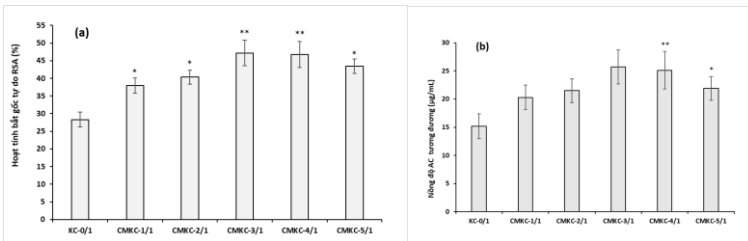


Hình 3.20. Ảnh SEM của (a) hạt KC-L, (b) bề mặt hạt KC-L, (c) hạt CMKC-3/1 không có lectin, (d) bề mặt hạt CMKC-3/1 không có lectin (e) Hạt CMKC-3/1- L, (f) bề mặt hạt CMKC-3/1- L.

3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của carrageenan, carboxymethyl-kappa-carrageenan và hạt vi nang carrageenan-lectin

3.4.1. Hoạt tính chống oxy hóa của carrageenan và carboxymethyl-kappa-carrageenan

Các carrageenan đã được chứng minh là chất chống oxy hóa tiềm năng để ngăn ngừa tổn thương oxy hóa ở các sinh vật sống. Và hầu hết các polysaccharide carboxylmethyl hóa đều có khả năng chống oxy hóa tốt hơn bằng cách trực tiếp bắt các gốc tự do.



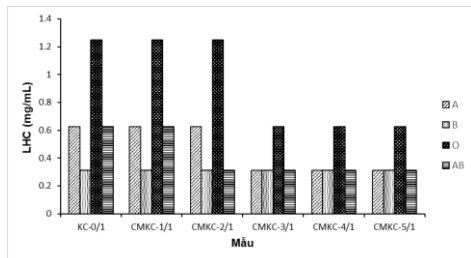
Hình 3.21. Hoạt tính chống oxy hóa của KC-0/1 và carboxymethyl-kappa-carrageenans (CMKC-1/1 đến CMKC-5/1) ở nồng độ (500 μg/mL).

(a) Hoạt tính bắt gốc tự do - RSA (%) của DPPH và (b) Hoạt tính tương đương nồng độ acid ascorbic (AC). Các giá trị là giá trị trung bình $\pm$ SD (n = 3). Sự khác biệt được chỉ ra bằng dấu hoa thị. *P < 0,05 và **P < 0,01 đối với CMKC so với KC-0/1.

3.4.2. Hoạt tính ngưng kết hồng cầu

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của CMKC trên các nhóm máu A, B, AB, O của người

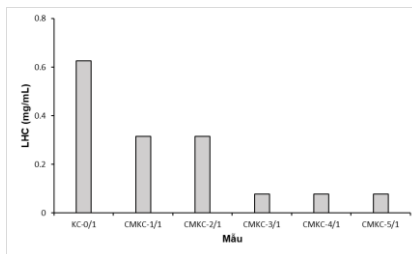
Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của CMKC phụ thuộc vào mức độ thay thế nhóm carboxymethyl trong kappa-carrageenan.



Hình 3.23. Nồng độ ngưng kết hồng cầu thấp nhất (LHC) (mg/mL) của KC-0/1 và CMKC (CMKC-1/1 đến CMKC-5/1) trên các nhóm máu người.

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của CMKC trên máu thỏ đã xử lý trypsin

Kết quả phân tích cho thấy hoạt tính ngưng kết hồng cầu của CMKC trên hồng cầu thỏ cũng phụ thuộc vào mức độ thay thế nhóm carboxymethyl trong kappa-carrageenan.



Hình 3.24. Nồng độ ngưng kết hồng cầu thấp nhất (LHC) (mg/mL) của KC-0/1 và CMKC (CMKC-1/1 đến CMKC-5/1) trên hồng cầu thỏ.

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của dung dịch carboxymethyl-kappa-carrageenan và lectin

Sự liên kết giữa KC và CMKC với lectin: Tiến hành thí nghiệm tương tự phân tích đặc hiệu liên kết carbohydrate của lectin với các đường và glycoprotein. Kết quả phân tích cho thấy giữa KC, CMKC-(1/1 đến 5/1) với lectin không có các liên kết đặc hiệu.

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu của dung dịch carboxymethyl-kappa-carrageenan và lectin: Kết quả phân tích cho thấy hoạt tính NKHC của hỗn hợp tăng khi tăng nồng độ CMKC-3/1 từ 2,0% đến 3,0%, tiếp tục tăng nồng độ CMKC-3/1 đến 4,0% hoạt tính không đổi.

3.5. Đánh giá sự giải phóng lectin từ hạt vi nang polysaccharide – lectin

Quan sát sự giải phóng lectin theo thời gian của các hạt vi nang trong dung dịch đệm có pH = 1,2) và pH = 7,4, dịch ngâm ban đầu không màu sau đó chuyển dần sang màu hồng của lectin. Hạt từ KC có sự giải phóng lectin trong cả hai môi trường nhanh hơn so với các hạt tạo từ CMKC. Điều này giúp hạn chế sự phân hủy lectin ở môi trường pH thấp và tăng thời gian lưu trú ở môi trường kiềm. Khi tăng nồng độ CMKC-3/1 thì hàm lượng lectin được giải phóng sẽ chậm hơn, do hàm lượng CMKC-3/1 tăng sẽ làm tăng mật độ liên kết bề mặt hạt, cần có thêm thời gian để CMKC-3/1 khuếch tán trong dung dịch ở pH = 1,2, và trương nở ở môi trường pH = 7,4.

KẾT LUẬN

Luận án đã hoàn thành các mục tiêu đã đặt ra và thu được một số kết quả chính như sau:

1. Đây là công trình nghiên cứu khoa học đầu tiên ở Việt Nam thu nhận tích hợp lectin và carrageenan từ hai đối tượng rong đỏ: *Kappaphycus striatus* được trồng tại vịnh Vân Phong tỉnh Khánh Hòa và *Betaphycus gelatinus* được thu hoạch tự nhiên tại vùng biển tỉnh Ninh Thuận (nay thuộc tỉnh Khánh Hòa). Luận án đã phân tích đặc tính cấu trúc và hoạt tính sinh học của các lectin và carrageenan chiết tách từ các đối tượng rong đỏ:

- Thành phần của rong đỏ *Kappaphycus striatus* chủ yếu là kappa-carrageenan với một phần nhỏ iota-carrageenan, trong khi đó thành phần hóa học của carrageenan từ rong *Betaphycus gelatinus* là carrageenan lai hóa gồm beta-carrageenan (68,6%) và kappa-carrageenan (31,4%)

- Các lectin từ rong đỏ *Kappaphycus striatus* và *Betaphycus gelatinus* được xác định thành phần và có hoạt tính ngưng kết hồng cầu trên hồng cầu thỏ.

2. Lần đầu tiên tổng hợp dẫn xuất carboxymethyl-kappa-carrageenan từ kappa-carrageenan của rong đỏ *Kappaphycus striatus* nuôi trồng tại vịnh Vân Phong tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam. Kappa-carrageenan và dẫn xuất CMKC từ rong đỏ *Kappaphycus striatus* được phân tích cấu trúc và cho thấy có hoạt tính NKHC và chống oxy hóa. Các dẫn xuất CMKC có độ trương nở phụ thuộc vào pH của môi trường. Trong đó, mẫu CMKC-3/1 có độ thể cao nhất ($DS = 1,12$) với các hoạt tính cao hơn các mẫu còn lại; đồng thời hạt vi nang tạo từ CMKC-3/1 có độ trương nở thấp ở môi trường $pH = 1,2$ và độ trương nở cao hơn các mẫu còn lại ở môi trường $pH = 7,4$.

3. Đã tạo được hạt vi nang từ kappa-carrageenan và dẫn xuất CMKC-3/1 chứa lectin từ rong đỏ *Kappahycus striatus*, sử dụng nồng độ dẫn xuất là

3% để đạt hiệu xuất bọc cao; lectin vẫn giữ được hoạt tính ngưng kết hồng cầu trong quá trình tạo hạt vi nang; và đã bước đầu đánh giá khả năng giải phóng lectin của hạt vi nang ở các môi trường pH thay đổi 1,2 và 7,4 cho thấy lectin từ hạt vi nang dẫn xuất CMKC có sự giải phóng chậm hơn so với các hạt từ KC theo thời gian.

KIẾN NGHỊ

1. Tiếp tục đánh giá động học giải phóng lectin của các hạt vi nang ở các môi trường pH thay đổi.
2. Xác định các hoạt tính của lectin được giải phóng khỏi hạt vi nang tại các môi trường pH thay đổi.
3. Nghiên cứu tạo hạt vi nang từ carboxymethyl-kappa-carrageenan bọc các chất mang hoạt tính sinh học khác như curcumin từ củ nghệ, beta-carotene từ gấc, mục đích tăng tính độ hòa tan khi sử dụng qua đường tiêu hóa.

CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

1. Le Dinh Hung, **Hoang Thi Trang Nguyen**, and Vo Thi Dieu Trang, 2022, Kappa carrageenan from the red alga *Kappaphycus striatus* cultivated at Vanphong Bay, Vietnam: physicochemical properties and structure, *Journal of applied phycology*, 33, 1819–1824.
2. Le Dinh Hung, **Hoang Thi Trang Nguyen**, Vo Thi Dieu Trang, Le Trong Nghia, Dinh Thanh Trung, Thanh Thi Thu Thuy, 2024, Hybrid beta/kappa/gamma-carrageenan from the red alga *Betaphycus gelatinus* in Vietnam, *Journal of applied phycology*, 36, 3689–3695.
3. **Hoang Thi Trang Nguyen**, Dinh Thanh Trung, Vo Thi Dieu Trang, Pham Duc Thinh, Thanh Thi Thu Thuy, Le Dinh Hung, 2025, Carboxymethyl-kappa-carrageenan derivatives synthesized from kappa-carrageenan of the red alga *Kappaphycus striatus* cultivated in Vietnam: Characterization, structure and biological activity, *Journal of Applied Phycolog*, 37, 527–537.
4. **Hoàng Thị Trang Nguyên**, Lê Đình Hùng, Thành Thị Thu Thủy, 09/2024, Nghiên cứu carboxymethyl-kappa-carrageenan bao gói lectin từ rong đỏ *Kappaphycus striatus*, *Tạp chí hóa học và ứng dụng*, 3B (71), 281-287
5. **Hoàng Thị Trang Nguyên**, Lê Đình Hùng, 2022, Kappa carrageenan từ rong đỏ *Kappaphycus striatus*, *Hội nghị quốc tế “Biển Đông 2022”*, 508-518. (ISBN: 978-604-357-067-0)
6. Le Dinh Hung, **Hoang Thi Trang Nguyen**, 2022, The red algae, carrageenophytes: source of potential lectins for application, *Hội nghị quốc tế “Biển Đông 2022”*, 444-455. (ISBN: 978-604-357-067-0)