

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

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

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**NGUYỄN THỊ TỐ UYÊN**

**ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HOÁ,  
KHÁNG KHUẨN VÀ TÁC ĐỘNG LÊN MỘT SỐ  
VI SINH VẬT ĐƯỜNG RUỘT CỦA BỘT LÁ LÚA NON  
(*Oryza sativa*)**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

**Ngành: Công nghệ sinh học**

**Mã số: 9 42 02 01**

**TP. HỒ CHÍ MINH – 2025**

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

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

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**NGUYỄN THỊ TỔ UYÊN**

**ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HOÁ,  
KHÁNG KHUẨN VÀ TÁC ĐỘNG LÊN MỘT SỐ  
VI SINH VẬT ĐƯỜNG RUỘT CỦA BỘT LÁ LÚA NON  
(*Oryza sativa*)**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

**Ngành: Công nghệ sinh học**

**Mã số: 9 42 02 01**

**Xác nhận của Học viện  
Khoa học và Công nghệ**

**Người hướng dẫn 1**

**Người hướng dẫn 2**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Nguyễn Hữu Thanh", written over a horizontal line.

**TS. Nguyễn Hữu  
Thanh**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Nguyễn Thị Phương Thảo", written over a horizontal line.

**PGS.TS. Nguyễn Thị  
Phương Thảo**

**TP. HỒ CHÍ MINH – 2025**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "Đánh giá hoạt tính chống oxy hoá, kháng khuẩn và tác động lên một số vi sinh vật đường ruột của bột lá lúa non (*Oryza sativa*)" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của **TS. Nguyễn Hữu Thanh** và **PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo**. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

*TP. Hồ Chí Minh, ngày 17 tháng 11 năm 2025*

Tác giả luận án



**Nguyễn Thị Tố Uyên**

## LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc đến Thầy TS. Nguyễn Hữu Thanh và Cô PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo đã đồng hành, hướng dẫn và định hướng khoa học trong suốt quá trình thực hiện luận án này. Thầy và Cô không chỉ truyền đạt kiến thức chuyên môn sâu rộng, mà còn luôn theo sát, động viên và tạo động lực để tôi vượt qua những khó khăn trong suốt chặng đường nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo cùng Phòng Quản lý tổng hợp của Viện Khoa học Sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ nhiệt tình, tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất và môi trường nghiên cứu trong suốt thời gian thực hiện luận án.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành đến Ban Giám hiệu, lãnh đạo các Khoa và tập thể giảng viên Học viện Khoa học và Công nghệ đã tận tình giảng dạy và hỗ trợ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu tại Học viện.

Tôi xin cảm ơn đề tài cấp Sở Khoa học và Công nghệ TP. Cần Thơ “Xác định hoạt tính chống oxy hóa và kháng nấm của lúa non để làm thực phẩm chức năng và mỹ phẩm chăm sóc da” với đơn vị chủ trì là Trung tâm Ứng dụng Tiên bộ Khoa học và Công nghệ TP. Cần Thơ đã hỗ trợ một phần kinh phí cho các nghiên cứu trong luận án này.

Nguyễn Thị Tố Uyên được tài trợ bởi Chương trình học bổng thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2023.TS.145 và VINIF.2024.TS.044. Sự hỗ trợ này có ý nghĩa rất lớn, giúp tôi có thêm điều kiện và động lực để theo đuổi hành trình học thuật một cách nghiêm túc và hiệu quả.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình, thầy cô, bạn bè và đồng nghiệp – những người đã luôn là điểm tựa tinh thần vững chắc, đồng hành và khích lệ tôi trên hành trình học thuật đầy thử thách nhưng cũng nhiều ý nghĩa này.

Xin chân thành cảm ơn!

*TP. Hồ Chí Minh, ngày 17 tháng 11 năm 2025*

Tác giả luận án



**Nguyễn Thị Tố Uyên**

## MỤC LỤC

|                                                                                           |             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>LỜI CAM ĐOAN.....</b>                                                                  | <b>i</b>    |
| <b>LỜI CẢM ƠN.....</b>                                                                    | <b>ii</b>   |
| <b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT .....</b>                                    | <b>viii</b> |
| <b>DANH MỤC BẢNG.....</b>                                                                 | <b>ix</b>   |
| <b>DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ.....</b>                                                  | <b>x</b>    |
| <b>MỞ ĐẦU .....</b>                                                                       | <b>1</b>    |
| <b>Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....</b>                                                | <b>4</b>    |
| 1.1. Giới thiệu về cây lúa.....                                                           | 4           |
| 1.1.1. Nguồn gốc, phân loại và phân bố .....                                              | 4           |
| 1.1.2. Tình hình sản xuất, phân bố và đa dạng giống lúa tại Việt Nam ....                 | 4           |
| 1.1.3. Đặc điểm sinh lý và giai đoạn sinh trưởng một số giống lúa ở Việt Nam .....        | 5           |
| 1.2. Thành phần dinh dưỡng và các hợp chất sinh học trong lá lúa non .....                | 7           |
| 1.2.1. Thành phần dinh dưỡng.....                                                         | 7           |
| 1.2.2. Các hợp chất sinh học thực vật trong lá lúa .....                                  | 8           |
| 1.2.2.1. Chất diệp lục (Chlorophyll).....                                                 | 8           |
| 1.2.2.2. Các hợp chất polyphenol.....                                                     | 9           |
| 1.3. Yếu tố ảnh hưởng đến các hợp chất sinh học trong lá lúa.....                         | 10          |
| 1.3.1. Giống lúa .....                                                                    | 10          |
| 1.3.2. Giai đoạn sinh trưởng .....                                                        | 11          |
| 1.3.3. Điều kiện ánh sáng .....                                                           | 12          |
| 1.4. Phương pháp sử dụng trong chế biến bột lá lúa .....                                  | 13          |
| 1.4.1. Dung môi sử dụng trong chiết xuất .....                                            | 13          |
| 1.4.2. Phương pháp bất hoạt enzyme.....                                                   | 14          |
| 1.4.3. Phương pháp sấy phun .....                                                         | 15          |
| 1.5. Vi sinh vật đường ruột và ảnh hưởng của sản phẩm thực vật .....                      | 16          |
| 1.6. Các thử nghiệm đánh giá hoạt tính chống oxy hoá .....                                | 18          |
| 1.6.1. Thử nghiệm khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH.....                                    | 18          |
| 1.6.2. Thử nghiệm khả năng chống oxy hóa tương đương Trolox (ABTS) .....                  | 18          |
| 1.6.3. Thử nghiệm khử sắt FRAP .....                                                      | 18          |
| 1.6.4. Thử nghiệm năng lực khử (Reducing Power – RP) .....                                | 19          |
| 1.7. Vi sinh vật gây bệnh sử dụng trong đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm ..... | 20          |

|                                                            |                                                                                                                                                        |           |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.7.1.                                                     | Vi khuẩn <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                                                                                           | 20        |
| 1.7.2.                                                     | Vi khuẩn <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                                                            | 20        |
| 1.7.3.                                                     | Vi khuẩn <i>Escherichia coli</i> .....                                                                                                                 | 21        |
| 1.7.4.                                                     | Nấm <i>Candida albicans</i> .....                                                                                                                      | 21        |
| 1.8.                                                       | Các nghiên cứu trong và ngoài nước về hoạt tính sinh học của lá lúa và sản phẩm từ lá lúa.....                                                         | 22        |
| 1.8.1.                                                     | Nghiên cứu ngoài nước .....                                                                                                                            | 22        |
| 1.8.2.                                                     | Nghiên cứu trong nước.....                                                                                                                             | 24        |
| <b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b> |                                                                                                                                                        | <b>27</b> |
| 2.1.                                                       | Phương tiện nghiên cứu.....                                                                                                                            | 27        |
| 2.1.1.                                                     | Địa điểm nghiên cứu .....                                                                                                                              | 27        |
| 2.1.2.                                                     | Vật liệu nghiên cứu .....                                                                                                                              | 27        |
| 2.1.2.1.                                                   | Giống lúa sử dụng trong nghiên cứu .....                                                                                                               | 27        |
| 2.1.2.2.                                                   | Chủng vi sinh vật sử dụng trong thử nghiệm kháng khuẩn.....                                                                                            | 28        |
| 2.1.2.3.                                                   | Động vật thí nghiệm .....                                                                                                                              | 28        |
| 2.1.2.4.                                                   | Đất và nước sử dụng trong thí nghiệm.....                                                                                                              | 29        |
| 2.1.3.                                                     | Thiết bị, dụng cụ và hóa chất.....                                                                                                                     | 29        |
| 2.2.                                                       | Phương pháp nghiên cứu .....                                                                                                                           | 30        |
| 2.2.1.                                                     | Sơ đồ thí nghiệm chung.....                                                                                                                            | 30        |
| 2.2.2.                                                     | Bố trí thí nghiệm.....                                                                                                                                 | 31        |
| 2.2.2.1.                                                   | Khảo sát ảnh hưởng của giống lúa, điều kiện sinh trưởng và thời điểm thu hoạch đến hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng hợp chất trong lá lúa non..... | 31        |
| 2.2.2.2.                                                   | Khảo sát quy trình công nghệ thu nhận BLL .....                                                                                                        | 32        |
| 2.2.2.3.                                                   | Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá, kháng khuẩn và tác động của BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột.....                                                   | 34        |
| 2.3.                                                       | Các phương pháp phân tích.....                                                                                                                         | 38        |
| 2.3.1.                                                     | Ly trích dịch lá lúa.....                                                                                                                              | 38        |
| 2.3.2.                                                     | Phân tích hàm lượng chlorophyll tổng .....                                                                                                             | 38        |
| 2.3.3.                                                     | Phân tích hàm lượng polyphenol tổng.....                                                                                                               | 39        |
| 2.3.4.                                                     | Xác định tỷ lệ tổn thất chlorophyll và polyphenol .....                                                                                                | 40        |
| 2.3.5.                                                     | Phân tích hàm lượng flavonoid tổng .....                                                                                                               | 40        |
| 2.3.6.                                                     | Phân tích hàm lượng xơ tan.....                                                                                                                        | 41        |
| 2.3.7.                                                     | Xác định hoạt tính enzyme polyphenol oxidase.....                                                                                                      | 41        |
| 2.3.8.                                                     | Phân tích khả năng khử gốc tự do DPPH .....                                                                                                            | 42        |
| 2.3.9.                                                     | Phân tích khả năng khử gốc tự do ABTS .....                                                                                                            | 42        |

|                  |                                                                                                                                |           |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.10.          | Phân tích năng lực khử (RP).....                                                                                               | 43        |
| 2.3.11.          | Phân tích khả năng khử sắt (FRAP) .....                                                                                        | 43        |
| 2.3.12.          | Phân tích thành phần hợp chất bằng GC-MS/MS .....                                                                              | 44        |
| 2.3.13.          | Phân tích thành phần hợp chất bằng HPLC.....                                                                                   | 44        |
| 2.3.14.          | Phương pháp khuếch tán trên giếng thạch.....                                                                                   | 45        |
| 2.3.15.          | Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) .....                                                                      | 46        |
| 2.3.16.          | Phương pháp xác định mật số vi khuẩn LAB và AeB.....                                                                           | 46        |
| 2.3.17.          | Môi trường sử dụng nuôi cấy vi sinh vật.....                                                                                   | 47        |
| 2.3.18.          | Xét nghiệm huyết học.....                                                                                                      | 48        |
| 2.3.19.          | Phân tích hình thái mô học ruột non.....                                                                                       | 48        |
| 2.3.20.          | Phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA .....                                                                                   | 48        |
| 2.3.21.          | Phương pháp xử lý số liệu .....                                                                                                | 49        |
| <b>Chương 3.</b> | <b>KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>                                                                                              | <b>51</b> |
| 3.1.             | Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá trong lá lúa non.....        | 51        |
| 3.1.1.           | Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá trong lá lúa non .....       | 51        |
| 3.1.1.1.         | Hàm lượng chlorophyll tổng .....                                                                                               | 51        |
| 3.1.1.2.         | Tỷ lệ chlorophyll a/b .....                                                                                                    | 52        |
| 3.1.1.3.         | Hàm lượng polyphenol tổng.....                                                                                                 | 54        |
| 3.1.1.4.         | Hàm lượng xơ tan.....                                                                                                          | 56        |
| 3.1.1.5.         | Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH.....                                                                                              | 57        |
| 3.1.1.6.         | Phân tích mối tương quan giữa hàm lượng hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa non.....                                | 58        |
| 3.1.1.7.         | Đánh giá ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa non..... | 60        |
| 3.1.2.           | Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa non.....                     | 61        |
| 3.1.2.1.         | Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa non.....                                           | 61        |
| 3.1.2.2.         | Ảnh hưởng điều kiện ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa.....                                                  | 65        |
| 3.1.2.3.         | Đánh giá ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện che phủ ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa non.....    | 69        |
| 3.2.             | Khảo sát các điều kiện tối ưu trong thu nhận BLL.....                                                                          | 73        |
| 3.2.1.           | Phương pháp bất hoạt enzyme polyphenol oxidase .....                                                                           | 73        |

|          |                                                                                                                   |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1.1. | Ảnh hưởng phương pháp bất hoạt enzyme đến tổn thất hàm lượng chlorophyll trong lá lúa.....                        | 73 |
| 3.2.1.2. | Ảnh hưởng phương pháp bất hoạt enzyme đến tổn thất hàm lượng polyphenol trong lá lúa .....                        | 74 |
| 3.2.1.3. | Ảnh hưởng các điều kiện xử lý lên sự ức chế enzyme polyphenol oxidase.....                                        | 75 |
| 3.2.1.4. | Đánh giá ảnh hưởng các phương pháp xử lý đến chlorophyll, polyphenol và enzyme polyphenol oxidase .....           | 76 |
| 3.2.2.   | Ảnh hưởng tỷ lệ và nồng độ ethanol đến chiết xuất các hợp chất trong lá lúa non .....                             | 77 |
| 3.2.2.1. | Ảnh hưởng tỷ lệ và nồng độ ethanol đến chiết xuất chlorophyll .....                                               | 77 |
| 3.2.2.2. | Ảnh hưởng tỷ lệ và nồng độ ethanol đến chiết xuất polyphenol .....                                                | 78 |
| 3.2.2.3. | Đánh giá ảnh hưởng dung môi ethanol đến chiết xuất chlorophyll và polyphenol.....                                 | 79 |
| 3.2.3.   | Ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun đến chất lượng của BLL.....                                                           | 80 |
| 3.2.3.1. | Ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun đến hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính bắt gốc tự do (DPPH) của BLL ..... | 80 |
| 3.2.3.2. | Phân tích tương quan giữa các hợp chất và hoạt tính DPPH..                                                        | 82 |
| 3.2.3.3. | Đánh giá ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun đến chất lượng BLL.                                                          | 83 |
| 3.2.4.   | Phân tích chất lượng BLL theo tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm .....                                          | 85 |
| 3.2.5.   | Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian bảo quản đến chất lượng BLL..                                                     | 86 |
| 3.2.5.1. | Ảnh hưởng đến hàm lượng chlorophyll tổng .....                                                                    | 86 |
| 3.2.5.2. | Ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng.....                                                                      | 86 |
| 3.2.5.3. | Ảnh hưởng đến hàm lượng xơ tan.....                                                                               | 87 |
| 3.2.5.4. | Ảnh hưởng đến hoạt tính bắt gốc tự do DPPH.....                                                                   | 88 |
| 3.2.5.5. | Đánh giá ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian bảo quản lên chất lượng của BLL .....                                    | 88 |
| 3.3.     | Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá của bột lá lúa non.....                                                          | 90 |
| 3.3.1.   | Phân tích HPLC xác định nhóm chất catechin .....                                                                  | 90 |
| 3.3.2.   | Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá của BLL .....                                                                    | 91 |
| 3.3.3.   | Phân tích mối tương quan giữa thành phần hoá học và hoạt tính chống oxy hoá của BLL.....                          | 93 |
| 3.3.4.   | Đánh giá khả năng chống oxy hoá của BLL .....                                                                     | 95 |

|                                                                                     |                                                                    |             |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------|
| 3.4.                                                                                | Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL.....           | 96          |
| 3.4.1.                                                                              | Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL.....           | 96          |
| 3.4.2.                                                                              | Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL .....          | 99          |
| 3.5.                                                                                | Tác động tiêu thụ BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột ở chuột .....  | 101         |
| 3.5.1.                                                                              | Khảo sát ảnh hưởng của BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột.....      | 101         |
| 3.5.1.1.                                                                            | Chỉ số huyết học .....                                             | 101         |
| 3.5.1.2.                                                                            | Hình thái mô học ruột non.....                                     | 102         |
| 3.5.1.3.                                                                            | Trọng lượng chuột.....                                             | 103         |
| 3.5.1.4.                                                                            | Mật số vi khuẩn LAB và AeB .....                                   | 104         |
| 3.5.1.5.                                                                            | Thành phần và dự đoán chức năng hệ vi sinh vật đường ruột<br>..... | 106         |
| 3.5.2.                                                                              | Đánh giá tác động tiêu thụ BLL trên mô hình chuột.....             | 117         |
| 3.5.2.1.                                                                            | Huyết học và mô học.....                                           | 117         |
| 3.5.2.2.                                                                            | Mật số vi khuẩn LAB và AeB .....                                   | 117         |
| 3.5.2.3.                                                                            | Hệ vi sinh vật đường ruột.....                                     | 118         |
| 3.5.2.4.                                                                            | Dự đoán chức năng hệ vi sinh vật đường ruột .....                  | 119         |
| <b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>                                                   |                                                                    | <b>124</b>  |
| <b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN</b><br><b>ÁN.....</b>         |                                                                    | <b>126</b>  |
| <b>DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>                                             |                                                                    | <b>127</b>  |
| <b>PHỤ LỤC 1. Kết quả phân tích thống kê.....</b>                                   |                                                                    | <b>xii</b>  |
| <b>PHỤ LỤC 2. Hình ảnh, số liệu và các kết quả phân tích chỉ tiêu lá lúa ...xxv</b> |                                                                    |             |
| <b>PHỤ LỤC 3. Kết quả phân tích các chỉ số.....</b>                                 |                                                                    | <b>lxix</b> |

**DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT**

| <b>Viết tắt</b> | <b>Tiếng Anh</b>                                       | <b>Tiếng Việt</b>                                      |
|-----------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| ABTS            | 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) | 2,2'-azino-bis(axit 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) |
| AeB             | Aerobic bacteria                                       | Vi khuẩn hiếu khí                                      |
| BLL             | Rice leaf powder                                       | Bột cao chiết lá lúa non                               |
| CA              | Correspondence analysis                                | Phân tích tương ứng                                    |
| CDAS            | Light intensity                                        | Cường độ ánh sáng                                      |
| cs.             | Co-author                                              | Cộng sự                                                |
| DPPH            | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl                          | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl                          |
| IZ              | Inhibition zone                                        | Vùng ức chế                                            |
| EGCG            | Epigallocatechin-3- gallate                            | Epigallocatechin-3- gallate                            |
| FRAP            | The ferric reducing antioxidant power                  | Khả năng chống oxy hóa khử sắt                         |
| GAE             | Gallic acid equivalent                                 | Tương đương axit gallic                                |
| HPLC            | High-performance liquid chromatography                 | Sắc ký lỏng hiệu cao năng                              |
| IRRI            | The International Rice Research Institute              | Viện nghiên cứu lúa gạo quốc tế                        |
| LAB             | Lactic acid bacteria                                   | Vi khuẩn axit lactic                                   |
| LB              | Luria-Bertani                                          | Luria-Bertani                                          |
| MD              | Maltodextrin                                           | Maltodextrin                                           |
| MIC             | Minimum inhibitory concentration                       | Nồng độ ức chế tối thiểu                               |
| PCA             | Principal component analysis                           | Phân tích thành phần chính                             |
| PPO             | Polyphenol oxidase                                     | Enzyme polyphenol oxidase                              |
| ROS             | Reactive oxygen species                                | Các loại oxy hoá phản ứng                              |
| RP              | Reducing Power                                         | Khả năng khử sắt                                       |
| TE              | Trolox equivalent                                      | Tương đương Trolox                                     |
| VSVDR           | Gut microbiota                                         | Vi sinh vật đường ruột                                 |

**DANH MỤC BẢNG**

| <b>Nội dung bảng</b>                                                                                 | <b>Số trang</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Bảng 1.1. Thành phần dinh dưỡng của lá lúa non ( <i>O. sativa</i> )                                  | 8               |
| Bảng 2.1. Các giống lúa sử dụng trong nghiên cứu                                                     | 27              |
| Bảng 3.1. Hàm lượng chlorophyll tổng ( $\mu\text{g/g}$ lá) trong lá lúa theo điều kiện che sáng      | 52              |
| Bảng 3.2. Tỷ lệ chlorophyll a/b trong lá lúa theo điều kiện che sáng                                 | 53              |
| Bảng 3.3. Hàm lượng polyphenol tổng ( $\text{mg GAE/g}$ lá) của lá lúa theo điều kiện che sáng       | 55              |
| Bảng 3.4. Hàm lượng xơ tan ( $\text{mg/g}$ lá) trong lá lúa theo điều kiện che sáng                  | 56              |
| Bảng 3.5. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH ( $\mu\text{mol TE/g}$ lá) của lá lúa theo điều kiện che sáng | 58              |
| Bảng 3.6. Hệ số tương quan Spearman (R) giữa các chỉ tiêu sinh hoá của lá lúa                        | 59              |
| Bảng 3.7. Hàm lượng chlorophyll tổng, chlorophyll a, chlorophyll b của BLL theo nhiệt độ sấy phun    | 81              |
| Bảng 3.8. Hàm lượng polyphenol, flavonoid, xơ tan và hoạt tính DPPH của BLL theo nhiệt độ sấy phun   | 81              |
| Bảng 3.9. Hệ số tương quan Spearman (R) giữa các hợp chất và hoạt tính DPPH của BLL                  | 82              |
| Bảng 3.10. Phân tích chất lượng BLL                                                                  | 85              |
| Bảng 3.11. Hàm lượng chlorophyll, polyphenol và xơ tan trong BLL                                     | 91              |
| Bảng 3.12. Phương trình hồi quy và $\text{IC}_{50}$ của BLL và vitamin C                             | 93              |
| Bảng 3.13. Hệ số tương quan Spearman (R) giữa các thông số của bột lá lúa                            | 94              |
| Bảng 3.14. Đường kính vòng ức chế (mm) của BLL đối với vi khuẩn và nấm                               | 98              |
| Bảng 3.15. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của BLL đối với vi khuẩn và nấm                            | 98              |
| Bảng 3.16. Chỉ số huyết học của chuột sau khi tiêu thụ BLL                                           | 102             |
| Bảng 3.17. Chỉ số đa dạng alpha và beta                                                              | 106             |

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

| Nội dung hình                                                                             | Số trang |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Hình 1.1. Thời gian sinh trưởng và các giai đoạn phát triển của cây lúa                   | 6        |
| Hình 2.1. Sơ đồ thí nghiệm chung                                                          | 30       |
| Hình 2.2. Lúa được trồng trong các khay nhựa điều kiện ngoài trời                         | 32       |
| Hình 2.3. Bố trí thí nghiệm chuột bỏ sung bột lá lúa                                      | 36       |
| Hình 2.4. Chuột cho uống bột lá lúa bằng kim đầu tù                                       | 37       |
| Hình 2.5. Thu nhận mẫu phân chuột                                                         | 37       |
| Hình 2.6. Sơ đồ thí nghiệm 3.3                                                            | 38       |
| Hình 3.1. Hàm lượng chlorophyll tổng trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng              | 51       |
| Hình 3.2. Tỷ lệ chlorophyll a/b trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng                   | 53       |
| Hình 3.3. Hàm lượng polyphenol tổng trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng               | 54       |
| Hình 3.4. Hàm lượng xơ tan trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng                        | 56       |
| Hình 3.5. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của lá lúa theo thời gian sinh trưởng              | 57       |
| Hình 3.6. Phân tích cụm giữa hàm lượng các chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa     | 59       |
| Hình 3.7. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa IR504 theo thời gian sinh trưởng | 62       |
| Hình 3.8. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa TNG theo thời gian sinh trưởng   | 62       |
| Hình 3.9. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa NTH theo thời gian sinh trưởng   | 63       |
| Hình 3.10. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa NTI theo thời gian sinh trưởng  | 63       |
| Hình 3.11. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa HLA theo thời gian sinh trưởng  | 64       |
| Hình 3.12. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa HRO theo thời gian sinh trưởng  | 64       |

|                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Hình 3.13. Biểu đồ CA sự hiện diện nhóm chất theo giống lúa và điều kiện che sáng                                           | 66 |
| Hình 3.14. Biểu đồ dendogram về sự khác biệt trong biểu hiện nhóm chất của sáu giống lúa theo điều kiện che sáng            | 67 |
| Hình 3.15. Biểu đồ heatmap về sự khác biệt trong biểu hiện nhóm chất của sáu giống lúa theo điều kiện che sáng              | 68 |
| Hình 3.16. Đề xuất con đường thủy phân và luân chuyển chlorophyll trong lá lúa                                              | 70 |
| Hình 3.17. Đề xuất con đường chuyển hóa của các hợp chất thứ cấp trong lá lúa dưới điều kiện che sáng và không che sáng     | 72 |
| Hình 3.18. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý (chân, vi sóng và siêu âm) đến tổn thất chlorophyll trong lá lúa                   | 74 |
| Hình 3.19. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý (chân, vi sóng và siêu âm) đến tổn thất polyphenol trong lá lúa                    | 75 |
| Hình 3.20. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý (chân, vi sóng và siêu âm) đến tỷ lệ ức chế enzyme polyphenol oxidase trong lá lúa | 76 |
| Hình 3.21. Ảnh hưởng của tỷ lệ (dung môi: lá lúa non) và nồng độ ethanol đến quá trình chiết xuất chlorophyll               | 78 |
| Hình 3.22. Ảnh hưởng của tỷ lệ (dung môi: lá lúa non) và nồng độ ethanol đến quá trình chiết xuất polyphenol                | 78 |
| Hình 3.23. Bột lá lúa sau sấy phun và sấy đông khô (đối chứng)                                                              | 80 |
| Hình 3.24. Biểu đồ phân tích cụm giữa các giá trị của BLL                                                                   | 83 |
| Hình 3.25. Hàm lượng chlorophyll tổng trong BLL theo thời gian bảo quản                                                     | 86 |
| Hình 3.26. Hàm lượng polyphenol tổng trong BLL theo thời gian bảo quản                                                      | 87 |
| Hình 3.27. Hàm lượng xơ tan trong BLL theo thời gian bảo quản                                                               | 87 |
| Hình 3.28. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của BLL theo thời gian bảo quản                                                     | 88 |
| Hình 3.29. Sắc ký đồ trong kết quả phân tích HPLC của BLL                                                                   | 90 |
| Hình 3.30. Thử nghiệm DPPH, ABTS, FRAP và RP theo nồng độ BLL                                                               | 92 |
| Hình 3.31. Biểu đồ phân tích cụm giữa các thông số của bột lá lúa                                                           | 94 |

|                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Hình 3.32. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch                    | 97  |
| Hình 3.33. Hình thái lớp cắt ruột non nhuộm hematoxylin và eosin                                                      | 103 |
| Hình 3.34. Gia tăng trọng lượng chuột sau 14 ngày                                                                     | 104 |
| Hình 3.35. Phân lập vi khuẩn LAB và AeB trong phân                                                                    | 105 |
| Hình 3.36. Mật số vi khuẩn LAB và AeB trong phân                                                                      | 105 |
| Hình 3.37. Biểu đồ phân tích tọa độ chính (PCoA) về sự đa dạng beta                                                   | 107 |
| Hình 3.38. Sự phong phú thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp ngành                                                | 108 |
| Hình 3.39. Sự phong phú về thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp họ                                                | 109 |
| Hình 3.40. Sự phong phú về thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp chi                                               | 110 |
| Hình 3.41. Hồ sơ dự đoán chức năng trong 20 con đường enzyme biểu hiện cao nhất (KEGG EC)                             | 112 |
| Hình 3.42. Hồ sơ dự đoán chức năng trong 20 gen biểu hiện cao nhất (KEGG KO)                                          | 114 |
| Hình 3.43. Hồ sơ dự đoán chức năng của hệ vi khuẩn đường ruột trong 20 con đường biểu hiện cao nhất (KEGG MetaCyc)    | 116 |
| Hình 3.43. Mức độ biểu hiện các con đường chuyển hoá chính (KEGG Metacyc) cao nhất giữa các nhóm chuột                | 122 |
| Hình 3.45. Mô tả sự khác biệt trong thành phần hệ vi sinh đường ruột và con đường chuyển hóa ở chuột được bổ sung BLL | 122 |

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết thực hiện đề tài

Cây lúa (*Oryza sativa*) là cây lương thực chủ lực tại nhiều quốc gia châu Á và đóng vai trò cung cấp lương thực chính cho hơn một nửa dân số toàn cầu [1]. Là một trong những loại cây trồng quan trọng nhất, lúa chiếm diện tích lớn trong canh tác nông nghiệp. Theo báo cáo của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA), Việt Nam hiện xếp thứ 5 trên thế giới về sản xuất và tiêu thụ lúa gạo, trong đó vùng Đồng bằng sông Cửu Long là một trong ba khu vực trồng lúa trọng điểm [2].

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu đã tập trung khai thác giá trị dinh dưỡng và dược liệu từ các bộ phận sinh dưỡng của cây ngũ cốc, đặc biệt là lá non của lúa mì, lúa mạch và yến mạch. Các tài liệu nghiên cứu đã chứng minh lá non của các loài này chứa nhiều hợp chất thực vật có hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, kháng viêm, thải độc, hỗ trợ điều trị ung thư và kháng khuẩn [3,4]. Bột lá lúa mì non (*Triticum aestivum*) đã được thương mại hóa từ hơn 40 năm trước, trở thành nguyên liệu phổ biến trong ngành thực phẩm chức năng nhờ thành phần giàu chlorophyll, polyphenol, amino acid, vitamin, khoáng chất và các enzyme hoạt tính [5]. Đáng chú ý, nghiên cứu gần đây cho rằng lá lúa gạo có thành phần dinh dưỡng và các hợp chất sinh học gần giống với lá lúa mì [6], gợi mở tiềm năng ứng dụng của lá lúa như một nguyên liệu bản địa có giá trị cao, đặc biệt trong bối cảnh Việt Nam là một trong các quốc gia sản xuất lúa gạo hàng đầu khu vực.

Nhiều bằng chứng khoa học đã ghi nhận rằng lá lúa non chứa hàm lượng đáng kể các hợp chất polyphenol và flavonoid có hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, chống viêm và phòng ngừa ung thư [7,8]. Bên cạnh đó, các mô sinh dưỡng như lá, thân và chồi của cây lúa được xác định là nơi biểu hiện mạnh mẽ các gen liên quan đến tổng hợp các hợp chất sinh học bao gồm amino acid, flavonoid, phenolamide, terpene và vitamin [9]. Những dữ liệu này khẳng định tiềm năng khai thác lá lúa non như một nguồn nguyên liệu sinh học mới phục vụ cho mục tiêu chiết xuất hợp chất chức năng ứng dụng trong các ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm.

Tuy nhiên, cho đến nay, số lượng nghiên cứu chuyên sâu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của lá lúa non còn hạn chế, đặc biệt là các nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn và lợi khuẩn đường ruột chưa được công bố rộng rãi. Ngoài ra, các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng bột lá lúa non như giống lúa, điều kiện sinh trưởng, thời điểm thu hoạch cũng như quy trình chế biến vẫn chưa được nghiên cứu hệ thống. Vì vậy, luận án được thực hiện nhằm làm rõ tiềm năng sinh

học của lá lúa non và xây dựng quy trình sản xuất phù hợp để tạo ra sản phẩm có giá trị ứng dụng cao.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu**

Luận án nhằm nghiên cứu và phát triển sản phẩm bột cao chiết lá lúa non (sau đây gọi tắt là bột lá lúa non – BLL) từ giống *Oryza sativa* với các mục tiêu như sau:

- (1) Tối ưu hoá điều kiện thu hoạch lá lúa chứa hàm lượng cao các hợp chất sinh học.
- (2) Xây dựng quy trình thu nhận bột cao chiết lá lúa non có hiệu quả sinh học cao.
- (3) Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn và tác động lên hệ vi sinh vật đường ruột của BLL.

## **3. Nội dung nghiên cứu**

1/ Xác định điều kiện tối ưu về giống lúa, thời gian thu hoạch và điều kiện che sáng nhằm nâng cao khả năng tích lũy các hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa của lá lúa non.

2/ Xây dựng quy trình sản xuất BLL thông qua tối ưu hóa các khâu chế biến (bất hoạt enzyme, chiết tách, sấy phun và bảo quản) để bảo toàn hàm lượng hợp chất và hoạt tính sinh học.

3/ Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của sản phẩm BLL bằng các thử nghiệm *in-vitro*, đồng thời khảo sát tác động lên hệ vi sinh vật đường ruột thông qua phân tích thành phần, chức năng hệ vi sinh vật (giải trình tự gen 16S rRNA) và các chỉ số sinh lý trên chuột.

## **4. Cơ sở khoa học và thực tiễn của đề tài**

Kết quả nghiên cứu của luận án góp phần bổ sung cơ sở khoa học về tiềm năng sinh học của lá lúa non bao gồm khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn và hỗ trợ lợi khuẩn đường ruột. Trên cơ sở đó, luận án xây dựng quy trình sản xuất BLL có chất lượng cao, phù hợp với định hướng phát triển các sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc thực vật. Sản phẩm thu được có tiềm năng ứng dụng trong các lĩnh vực như thực phẩm chức năng, dược phẩm và nông nghiệp, đồng thời góp phần nâng cao giá trị thương mại từ cây lúa – loại cây trồng truyền thống chủ lực tại Việt Nam.

## **5. Những đóng góp mới của luận án**

1- Xây dựng quy trình công nghệ thu nhận bột cao chiết lá lúa non có hoạt tính sinh học cao, bao gồm các giai đoạn tối ưu hóa điều kiện thu hoạch và chế

biên nhằm bảo tồn tối đa các hợp chất có lợi như polyphenol, flavonoid và chlorophyll.

2- Chứng minh hoạt tính chống oxy hoá, kháng khuẩn và hỗ trợ điều hoà hệ vi sinh vật đường ruột của BLL thông qua các thử nghiệm trong ống nghiệm và trên mô hình chuột, góp phần khẳng định tiềm năng ứng dụng của sản phẩm trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và hỗ trợ sức khỏe đường tiêu hóa.

## Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. Giới thiệu về cây lúa

#### 1.1.1. Nguồn gốc, phân loại và phân bố

Lúa (*Oryza sativa* L.) là loài thực vật một lá mầm thuộc họ Hòa thảo (*Poaceae*), chi *Oryza*. Đây là loài lúa có năng suất cao, được trồng phổ biến và trên diện tích rộng lớn nhất toàn cầu, có nguồn gốc từ khu vực Nam Á và Đông Á [10].

Về mặt phân loại, *O. sativa* được chia thành hai phân loài chính: *O. sativa* ssp. *japonica* và *O. sativa* ssp. *indica*. Trong đó, các giống thuộc phân loài *indica* chủ yếu được canh tác tại các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, đặc biệt là tại các khu vực đồng bằng ngập nước của Nam Á và Đông Nam Á như Sri Lanka, miền Nam và Trung của Trung Quốc, Ấn Độ, Pakistan, Indonesia, Philippines, Đài Loan và Việt Nam. Ngược lại, các giống thuộc phân loài *japonica* - gồm *temperate japonica* (phù hợp với vùng ôn đới như miền Bắc và Đông của Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc) và *tropical japonica* (trước đây gọi là *javanica*, thích ứng tốt tại vùng cao Đông Nam Á và Nam Á) - thường xuất hiện ở những khu vực ôn đới, bán ôn đới và vùng núi cao, có khí hậu mát mẻ hoặc ẩm thấp [11].

Sự phân bố địa lý của các phân loài phụ này có liên quan mật thiết đến các đặc điểm thích nghi sinh lý. Cụ thể, các giống *O. sativa* ssp. *indica* thể hiện khả năng chịu nhiệt cao, trong khi các giống *O. sativa* ssp. *japonica* lại có khả năng chịu lạnh tốt hơn so với các giống lúa còn lại [11]. Những đặc điểm này là cơ sở cho việc phân bố sinh thái và canh tác thích nghi của các giống lúa trong điều kiện khí hậu khác nhau trên thế giới.

#### 1.1.2. Tình hình sản xuất, phân bố và đa dạng giống lúa tại Việt Nam

Theo Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hợp Quốc (FAO), Việt Nam hiện là quốc gia đứng thứ năm thế giới về sản lượng lúa, với tổng sản lượng đạt khoảng 43 - 44 triệu tấn thóc trong năm 2024 [12]. Diện tích gieo trồng lúa cả năm tại Việt Nam duy trì ở mức ổn định, khoảng 7 triệu hecta, tương đương với khoảng 3,5 - 3,75 triệu hecta diện tích canh tác (tính theo một vụ) [13]. Lúa là loại cây trồng được trồng phổ biến ở khắp các vùng miền trên cả nước. Trong đó, đồng bằng sông Hồng và sông Cửu Long là hai nơi có diện tích trồng lúa lớn nhất [2].

Đặc biệt, vùng Đồng bằng sông Cửu Long giữ vai trò then chốt trong sản xuất lúa gạo quốc gia, không chỉ về quy mô mà còn về sản lượng. Khu vực này đóng góp hơn 50% tổng sản lượng lúa cả nước, với sản lượng thu hoạch ước tính

đạt khoảng 24 triệu tấn trong năm 2024 [14]. Đây là vùng trọng điểm lúa gạo quốc gia và cũng là khu vực cung cấp phần lớn gạo xuất khẩu của Việt Nam.

Hệ thống giống lúa được trồng tại Việt Nam rất đa dạng về hình thái, sinh lý và di truyền, phản ánh sự phong phú sinh thái của một quốc gia trải dài theo trục vĩ tuyến, bao gồm nhiều vùng khí hậu và hệ sinh thái canh tác khác nhau. Các giống phổ biến hiện nay bao gồm *O. sativa* ssp. *indica*, *O. sativa* ssp. *japonica* và các giống lúa mùa bản địa có nguồn gốc lâu đời [15]. Đặc biệt, khu vực Đồng bằng sông Cửu Long là nơi tập trung nhiều giống lúa có sự đa dạng di truyền cao, thích nghi với điều kiện sinh thái phức tạp của vùng đồng bằng ven biển và chịu ảnh hưởng mặn, hạn [16].

So với các giống lúa lai hiện đại, các giống lúa mùa bản địa thể hiện nhiều đặc tính ưu việt như khả năng chịu hạn, mặn, sâu bệnh và côn trùng, cũng như hiệu quả hấp thu dinh dưỡng cao hơn. Những giống này đóng vai trò quan trọng trong công tác chọn tạo và cải tiến giống lúa, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu và nhu cầu nâng cao chất lượng gạo thương phẩm [15].

Với diện tích canh tác lớn và sản lượng sinh khối dồi dào, cây lúa không chỉ đóng vai trò là cây lương thực chiến lược, mà còn là nguồn nguyên liệu sinh học tiềm năng cho các ngành công nghiệp khác như thực phẩm chức năng, mỹ phẩm, dược liệu và năng lượng sinh học. Trong đó, các phụ phẩm từ cây lúa như lá, thân và vỏ trấu đang được quan tâm khai thác theo hướng kinh tế tuần hoàn, góp phần thúc đẩy phát triển bền vững nông nghiệp Việt Nam.

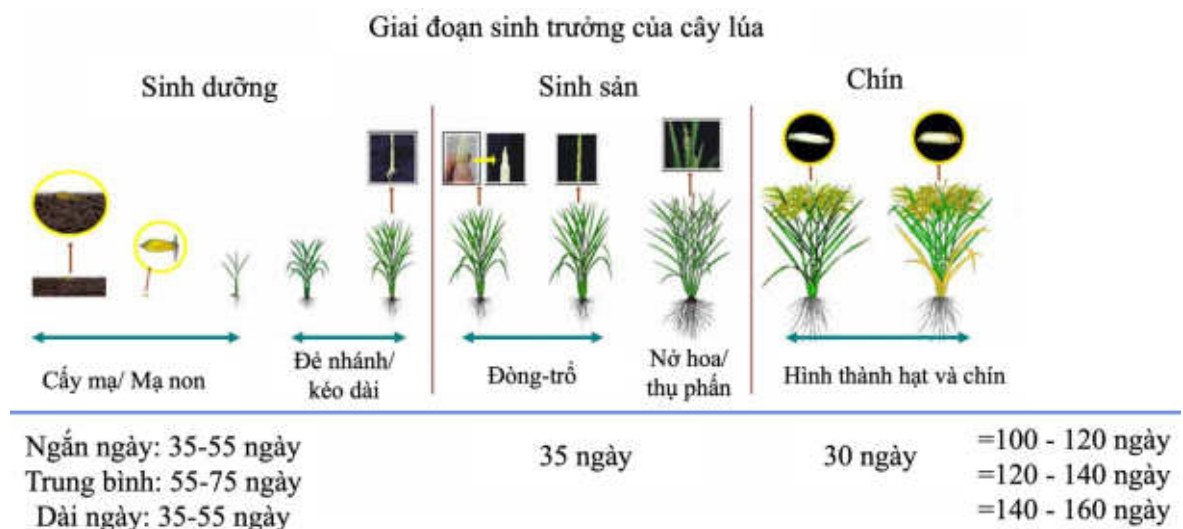
### **1.1.3. Đặc điểm sinh lý và giai đoạn sinh trưởng một số giống lúa ở Việt Nam**

Về hình thái, cây lúa lai hiện đại có chiều cao trung bình từ 90 - 120 cm, trong khi một số giống lúa mùa bản địa có thể đạt chiều cao trên 120 cm [17]. Mỗi lá lúa bao gồm bốn phần chính: bẹ lá, phiến lá, lưỡi lá và tai lá. Bẹ lá ôm sát thân, hình trụ, dài khoảng 10 - 30 cm, có màu xanh lục, bề mặt có thể có lông mịn hoặc nhẵn, đảm nhận vai trò bảo vệ chồi non và vận chuyển dinh dưỡng. Phiến lá hình dải, dài 20 - 50 cm, rộng 1 - 2,5 cm, có mép lá dạng răng cưa nhỏ. Lưỡi lá là màng mỏng nằm giữa bẹ và phiến lá, dài khoảng 1 - 3 mm. Tai lá là hai mấu nhỏ, hình lưỡi liềm, có màu xanh hoặc tím. Lá đóng vai trò trung tâm trong quá trình quang hợp, ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng đẻ nhánh và năng suất hạt. Bông lúa nhỏ, tự thụ phấn, mọc thành cụm dài 30 - 50 cm, có nhánh cong hoặc rủ xuống. Hạt lúa là dạng quả thóc, có chiều dài 5 - 12 mm và độ dày 2 - 3 mm [18].

Về sinh lý, giống *indica* và *japonica* thể hiện sự khác biệt. Giống *japonica* thường có chiều cao thấp hơn, phiến lá hẹp, màu nhạt, khả năng chịu lạnh tốt,

chống đổ mạnh, ít nhánh, tỷ lệ nảy mầm thấp và nhạy cảm với bệnh đạo ôn hơn so với giống *indica*. Ngoài ra, giống *japonica* thường có nhiều lông tơ hơn. Về hình thái hạt, *indica* cho hạt dài, ít dính (do hàm lượng amylopectin thấp), trong khi *japonica* có hạt ngắn, dính hơn [18].

Theo phân loại nông học, chu kỳ phát triển của cây lúa bao gồm ba giai đoạn chính: sinh dưỡng (vegetative), sinh sản (reproductive) và chín (ripening). Giai đoạn sinh dưỡng kéo dài từ khi nảy mầm đến khi phân hóa mầm hoa, thường dao động từ 35–75 ngày đối với giống lúa lai và 55–95 ngày đối với giống lúa mùa bản địa. Giai đoạn sinh sản (từ hình thành đến trổ hoa) kéo dài khoảng 35 ngày. Tổng thời gian từ nảy mầm đến chín có thể kéo dài 3–6 tháng, phụ thuộc vào yếu tố di truyền. Nhìn chung, lúa lai có chu kỳ sinh trưởng từ 100–120 ngày, trong khi các giống bản địa có thể kéo dài tới 160–180 ngày. Ở điều kiện nhiệt đới, lúa có chu kỳ 120 ngày thường có 60 ngày sinh dưỡng, 30 ngày sinh sản và 30 ngày chín (Hình 1.1) [17].



**Hình 1.1. Thời gian sinh trưởng và các giai đoạn phát triển của cây lúa**

*Nguồn Viện nghiên cứu lúa gạo quốc tế (IRRI) [17].*

Trong điều kiện môi trường thuận lợi, giai đoạn sinh dưỡng có thể chiếm tới 50% tổng chu kỳ sinh trưởng với sự gia tăng mạnh mẽ về số nhánh, diện tích lá, chiều cao cây, khối lượng khô của chồi và chỉ số diện tích lá (leaf area index). Các yếu tố như nhiệt độ và quang chu kỳ có ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ phát triển trong giai đoạn này [19].

Tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long, giống *O. sativa* ssp. *indica* là chủ đạo, bao gồm các giống lúa cao sản như IR50404, các giống bản địa như Tài Nguyên, Nàng Thơm, Nếp Tím Bạc Liêu, Huyết Rồng, và các dòng lai tạo như OM, ST, KC [16].

Giống IR50404—được phát triển bởi IRRI—là một giống lúa cao sản phổ biến tại Việt Nam, đặc biệt tại Đồng bằng sông Cửu Long. Giống này có thời gian sinh trưởng ngắn (85–90 ngày), dễ canh tác, thích nghi tốt và năng suất cao (6–8 tấn/ha), nhưng chất lượng gạo thấp do tỷ lệ bạc bụng và hàm lượng amylose cao [20].

Các giống lúa mùa bản địa như Nàng Thơm và Tài Nguyên có thời gian sinh trưởng dài, mùi thơm đặc trưng, được ưa chuộng về mặt cảm quan. Giống Jasmine 85 (Hương Lài), do IRRI lai tạo, cũng được canh tác rộng rãi tại Đồng bằng sông Cửu Long [21].

Giống Nếp Tím và Huyết Rồng là các giống lúa bản địa đặc sắc, có màu hạt từ đỏ đến tím đen do hàm lượng anthocyanin cao, thường được gọi là "gạo thảo dược" vì tiềm năng chống oxy hóa. Những giống này có thời gian sinh trưởng dài (175–180 ngày), khả năng chống chịu cao, năng suất trung bình khoảng 3,5–3,7 tấn/ha [22].

Lá lúa non của các giống lúa kể trên được xác định là nguồn nguyên liệu sinh học tiềm năng, tương tự như phần hạt vốn đã được khai thác lâu đời. Theo một nghiên cứu sử dụng phân tích hệ chất chuyển hóa mục tiêu và không mục tiêu, các mô sinh dưỡng như lá, thân và chồi là nơi thể hiện mạnh các gen liên quan đến sinh tổng hợp các hợp chất sinh học như amino acid, flavonoid, phenolamide, terpene và vitamin [9]. Một số nghiên cứu khác báo cáo rằng lá lúa non chứa các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa, chống béo phì, chống đái tháo đường, bảo vệ tế bào và ức chế tế bào ung thư [8,23–26]. Do đó, lá lúa non là nguồn nguyên liệu sinh học có tiềm năng lớn để phát triển thành sản phẩm dinh dưỡng và ứng dụng trong các ngành công nghiệp.

## **1.2. Thành phần dinh dưỡng và các hợp chất sinh học trong lá lúa non**

### **1.2.1. Thành phần dinh dưỡng**

Thành phần dinh dưỡng cơ bản của lá lúa non bao gồm độ ẩm, tro, chất béo, chất xơ, đạm (protein), carbohydrate và năng lượng trao đổi, là các chỉ tiêu phản ánh giá trị dinh dưỡng, chất lượng, độ ổn định và tính an toàn của nguyên liệu thực phẩm. Hàm lượng cụ thể của các thành phần này được trình bày trong Bảng 1.1.

Trong đó, carbohydrate tiêu hóa được (chủ yếu là tinh bột và các đường đơn, đường đôi) và chất xơ (carbohydrate không tiêu hóa) là hai nhóm thành phần quan trọng, có vai trò bổ trợ lẫn nhau trong chế độ dinh dưỡng cân đối. Carbohydrate cung cấp năng lượng cho quá trình trao đổi chất, trong khi chất xơ hỗ trợ hệ tiêu hóa, duy trì cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột, điều hòa chuyển hóa

lipid và glucose, đồng thời góp phần tăng cường sức khỏe tổng thể [27]. Các nghiên cứu cho thấy chất xơ từ cây ngũ cốc có khả năng thúc đẩy sự phát triển của vi sinh vật có lợi (như *Lactobacillus* và *Bifidobacterium*), ức chế vi sinh vật gây bệnh và cải thiện sức khỏe đường ruột [27,28]. Nhờ hàm lượng chất xơ cao, lá lúa non có tiềm năng lớn để phát triển thành nguồn nguyên liệu lợi khuẩn (prebiotic) hoặc phụ gia thực phẩm chức năng, góp phần gia tăng giá trị dinh dưỡng và kinh tế cho sản phẩm từ cây lúa.

**Bảng 1.1. Thành phần dinh dưỡng của lá lúa non (*O. sativa*) (5 – 25 ngày)**

| Thành phần        | Hàm lượng<br>(trong 100g trọng lượng tươi) |
|-------------------|--------------------------------------------|
| Độ ẩm (%)         | 64,72 - 79,11                              |
| Đạm (g)           | 3,38–5,99                                  |
| Chất béo (g)      | 0,32–1,2                                   |
| Tro (g)           | 2,86 - 5,78                                |
| Carbohydrate (g)  | 12,22–24,54                                |
| Chất xơ (g)       | 11,98 - 16,92                              |
| Năng lượng (Kcal) | 73,44–124,00                               |

Nguồn Tamprasit và cs. (2019) [29].

*Ghi chú: Hàm lượng carbohydrate được tính theo phương pháp chênh lệch (by difference) không bao gồm chất xơ; hàm lượng chất xơ được xác định riêng biệt theo phương pháp AOAC 985.29 (2016).*

Ngoài ra, các nghiên cứu gần đây cũng ghi nhận sự hiện diện của các fatty acid tự nhiên trong lá lúa non, đặc biệt là ở các giống gạo hạt dài, trắng hoặc đen, bao gồm  $\alpha$ -linolenic acid, linoleic acid, palmitic acid và stearic acid - đây là các hợp chất góp phần tạo nên mùi hương đặc trưng ở giống Jasmine và cũng được tìm thấy trong một số sản phẩm trà xanh thương mại [30]. Linoleic acid và  $\alpha$ -linolenic acid được chứng minh có khả năng ức chế vi khuẩn *Staphylococcus aureus* [31].

## 1.2.2. Các hợp chất sinh học thực vật trong lá lúa

### 1.2.2.1. Chất diệp lục (Chlorophyll)

Hầu hết lá của các loại ngũ cốc đều có chứa hàm lượng chlorophyll cao [7,32]. Khi so sánh hàm lượng chlorophyll trong lá của lúa gạo, lúa mì và lúa mạch, kết quả nghiên cứu cho thấy lá lúa gạo giống Jasmine và Sukhothai 2 có hàm lượng chlorophyll cao hơn so với lá lúa mì nhưng thấp hơn so với lá lúa mạch [7]. Trong y học, chlorophyll được báo cáo là hợp chất có hoạt tính sinh học có

thể ngăn ngừa ung thư, giải độc gan, kích thích hệ thống miễn dịch, kháng viêm và hỗ trợ phục hồi nhanh vết thương [33]. Chlorophyll và chlorophyllin là những thành phần hữu ích của dược phẩm, thực phẩm và mỹ phẩm vì chúng sở hữu các hoạt tính sinh học đa dạng khác nhau. Nghiên cứu trên mô hình chuột tiêu thụ sản phẩm thực vật chứa hàm lượng cao chlorophyll giúp kiểm soát cân nặng, béo phì và giúp cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột [34].

#### **1.2.2.2. Các hợp chất polyphenol**

Polyphenol là nhóm hợp chất thứ cấp phổ biến trong thực vật, đóng vai trò quan trọng trong các hoạt tính sinh học và dược lý, đặc biệt là khả năng chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn và bảo vệ tế bào [35]. Hàm lượng và thành phần polyphenol là yếu tố quyết định tiềm năng sinh học của cây trồng, trong đó lá lúa non được ghi nhận chứa nhiều hợp chất phenolic và flavonoid [8,29].

So sánh giữa các giống lúa, lá của giống gạo màu có hàm lượng anthocyanin và polyphenol cao hơn đáng kể so với giống gạo trắng [26,36]. Ở giai đoạn 8 ngày tuổi, polyphenol trong lá lúa tương đương hoặc thấp hơn nhẹ so với lá lúa mì [6]. Tuy nhiên, nghiên cứu của Wangcharoen và Phimphilai (2016) lại cho thấy chiết xuất lá lúa có hàm lượng polyphenol cao hơn 2–4 lần so với lá lúa mì [7]. Khanthapok và cs. (2015) khi khảo sát 14 giống lúa Thái Lan (7 giống gạo trắng và 7 giống gạo màu) cũng ghi nhận lá gạo màu có hàm lượng polyphenol cao hơn lá gạo trắng và cao hơn cả lá lúa mì [26]. Điều này khẳng định thành phần và hàm lượng polyphenol phụ thuộc chặt chẽ vào yếu tố di truyền giống lúa.

Tamprasit và cs. (2019) khi phân tích HPLC-DAD trên lá lúa 5–25 ngày tuổi đã xác định các hợp chất phenolic như protocatechuic acid, vanillic acid và rutin. Các hợp chất này đạt hàm lượng cao nhất ở giai đoạn thu hoạch sớm (5–7 ngày tuổi), đặc biệt vanillic acid cao nhất ở gạo đen (7,69 mg/g chiết xuất khô) và rutin cao nhất ở gạo trắng (1,68 mg/g chiết xuất khô). Hàm lượng phenolic tổng trong gạo đen cao hơn gạo trắng ở giai đoạn non, trong khi flavonoid lại cao hơn ở gạo trắng [29].

Ngoài anthocyanin, lá lúa còn chứa nhiều hợp chất phenolic khác như catechin, epicatechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG), luteolin, kaempferol, protocatechuic acid, vanillic acid, caffeic acid, ferulic acid và chlorogenic acid và rutin [37,38]. Phimphilai và cs. (2021) [39] đã chứng minh dịch chiết lá lúa non giống Sukhothai-1 (12–15 ngày tuổi) chứa catechin 2,71–3,57 mg/40 mL, epicatechin 0,98–1,85 mg/40 mL và EGCG 25,47–27,55 mg/40 mL.

Anthocyanin là sắc tố flavonoid quan trọng trong lá lúa, đặc biệt ở giống gạo màu. Hợp chất này có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, hỗ trợ chống viêm, bảo vệ tim mạch, giảm cholesterol, hạ đường huyết, ngăn ngừa lão hóa mô và bệnh thoái hóa thần kinh [40]. Protocatechuic acid – chất chuyển hóa của anthocyanin – được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm, kháng ung thư, bảo vệ thần kinh và kháng khuẩn [41]. Vanillic acid cũng được ghi nhận có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm và ngăn ngừa thoái hóa thần kinh [42]. Rutin, một flavonoid phổ biến trong lá lúa, có tác dụng bảo vệ mạch máu, chống ung thư, bảo vệ thần kinh và điều hòa đường huyết [43].

Như vậy, lá lúa chứa một phổ hợp chất phenolic đa dạng, bao gồm anthocyanin, flavonoid, phenolic acid và catechin – các hợp chất đóng vai trò then chốt trong hoạt tính chống oxy hóa và các hiệu ứng sinh học có lợi. Thành phần và hàm lượng polyphenol phụ thuộc vào giống lúa, giai đoạn thu hoạch và điều kiện canh tác, là cơ sở khoa học cho việc khai thác lá lúa như nguồn nguyên liệu tiềm năng cho thực phẩm chức năng và dược phẩm.

### **1.3. Yếu tố ảnh hưởng đến các hợp chất sinh học trong lá lúa**

Thành phần và hàm lượng các hợp chất sinh học trong cây thay đổi phụ thuộc vào giống lúa, thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng.

#### **1.3.1. Giống lúa**

Đặc điểm di truyền của giống lúa đóng vai trò quyết định trong việc hình thành đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa và đặc biệt là khả năng tổng hợp các hợp chất sinh học trong cây. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh sự khác biệt đáng kể về thành phần và hàm lượng các hợp chất này tùy thuộc vào bản chất di truyền của từng giống.

Roland và cs. (2017) đã đưa ra sự khác biệt trong hàm lượng và loại hợp chất sinh học có trong lá lúa giữa hai loài *O. glaberrima* và *O. sativa* [44]. Du và cs. (2021) ghi nhận rằng gallic acid và caffeic acid chỉ hiện diện ở *O. sativa* spp. *indica*, trong khi rutin chỉ phát hiện ở *O. sativa* spp. *japonica* [45]. Nghiên cứu của Nayeem và cs. (2021) trên năm giống lúa khác nhau cho thấy tổng hàm lượng phenolic, flavonoid và anthocyanin cao hơn đáng kể ở lúa gạo màu, đặc biệt là giống gạo đen [46]. Ngoài ra, các bộ phận của cây như hạt, thân, lá và rễ cũng tích lũy các hợp chất này khác nhau, trong đó lá và thân ở giai đoạn 30 ngày tuổi chứa hàm lượng phenolic cao nhất.

Kumbar và cs. (2021) so sánh hai giống lúa Rashi (chịu hạn) và Swarna (nhạy cảm), nhận thấy Rashi có hàm lượng phenolic và chlorophyll cao hơn trong

cả giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng và sinh sản [47]. Điều này có nghĩa các giống mang tính chống chịu tốt thường có khả năng tích lũy các hợp chất sinh học cao hơn, nhờ hệ gen thích nghi hiệu quả hơn với điều kiện bất lợi.

Theo Dong và cs. (2014), thành phần và hàm lượng flavonoid không chỉ phụ thuộc vào giống mà còn thay đổi theo từng bộ phận của cây. Cụ thể, giống *Indica* có xu hướng tích lũy flavonoid cao hơn, trong khi giống *Japonica* lại giàu flavone acyl hóa vòng thơm. Tương tự, các giống lúa màu có khả năng tích lũy các hợp chất chống oxy hóa mạnh như quercetin, ferulic acid, p-coumaric acid, ascorbic acid, caffeic acid và genistein [48].

Tamprasit và cs. (2019) khẳng định lá của giống lúa đen có hàm lượng anthocyanin tổng cao hơn các giống lúa màu khác, trong khi giống lúa trắng lại chứa nhiều polyphenol hơn. Dù hàm lượng chlorophyll giữa hai giống lúa trắng và đen không khác biệt đáng kể, lá lúa trắng thường có chlorophyll cao hơn ở giai đoạn đầu. Ngoài ra, flavonoid và các hydroxybenzoic acid thường tích lũy nhiều hơn ở giống lúa đen [29].

Khanthapok và cs. (2015) cũng khẳng định rằng lá của giống lúa gạo màu chứa hàm lượng polyphenol cao hơn so với các giống gạo trắng, đồng thời có khả năng chống oxy hóa mạnh hơn. Những bằng chứng trên cho thấy sự khác biệt trong biểu hiện gen điều khiển quá trình tổng hợp các hợp chất sinh học thực vật chính là hệ quả của nền tảng di truyền từng giống lúa [26].

### **1.3.2. Giai đoạn sinh trưởng**

Hàm lượng và thành phần các hợp chất sinh học trong thực vật, đặc biệt là chlorophyll và polyphenol, có sự biến đổi đáng kể theo từng giai đoạn sinh trưởng. Theo Kumbar và cs. (2021), hàm lượng chlorophyll tổng trong lá lúa cao hơn ở giai đoạn sinh trưởng so với giai đoạn sinh sản, trong khi hàm lượng phenolic giữa hai giai đoạn này không có sự chênh lệch đáng kể [47]. Mollaei và cs. (2020) khi nghiên cứu cây thảo mộc *Zosima absinthifolia* cũng ghi nhận sự biến thiên thành phần và hàm lượng các hợp chất sinh học theo thời gian sinh trưởng [49]. Cụ thể, hàm lượng các hợp chất phenolic như caffeic acid, salicylic acid, cũng như hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn ở giai đoạn phát triển sớm cao hơn so với giai đoạn chín hạt. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận trên cây đậu nành khi tổng hợp flavonoid trong lá chịu ảnh hưởng đáng kể bởi giai đoạn phát triển [50]. Nhìn chung, cây con hoặc các bộ phận còn non thường tích lũy lượng lớn các hợp chất phenolic để phục vụ cho nhu cầu tăng trưởng, trong khi ở giai đoạn trưởng thành hoặc lão hóa, hàm lượng các hợp chất này có xu hướng giảm.

Đối với cây lúa, Tamprasit và cs. (2019) đã chứng minh rằng lá giống lúa gạo trắng thu hoạch ở giai đoạn 5–7 ngày tuổi chứa hàm lượng chlorophyll và polyphenol cao hơn so với giai đoạn 20–25 ngày tuổi [29]. Đồng thời, các hợp chất hydroxybenzoic (như protocatechuic acid và vanillic acid) và flavonoid (rutin) cũng được phát hiện với hàm lượng cao hơn ở giai đoạn sớm. Tương tự, Niroula và cs. (2019) ghi nhận rằng phần lá của cây con 16 ngày tuổi thuộc các loài ngũ cốc như ngô, lúa mì và lúa mạch chứa hàm lượng polyphenol tổng cao hơn đáng kể so với phần hạt của chúng [51].

Việc đánh giá sự thay đổi hàm lượng hợp chất sinh học theo từng giai đoạn phát triển đóng vai trò thiết yếu trong việc xác định thời điểm thu hoạch tối ưu nhằm thu nhận sản phẩm giàu hoạt chất sinh học. Đồng thời, những nghiên cứu này còn cung cấp cơ sở khoa học cho việc hiểu rõ hơn về các con đường chuyển hóa và điều hòa trao đổi chất trong cây, từ đó định hướng các biện pháp nông học nhằm nâng cao hiệu quả sinh trưởng và giá trị sử dụng của cây trồng. Do đó, việc xác định thời điểm thu hoạch thích hợp đối với lá lúa là yếu tố then chốt để đảm bảo thu được sản phẩm có chất lượng sinh học cao nhất.

### **1.3.3. Điều kiện ánh sáng**

Ánh sáng là một trong những yếu tố môi trường quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng, phát triển và khả năng tích lũy các hợp chất chuyển hóa thứ cấp trong thực vật. Ba yếu tố chính của điều kiện ánh sáng gồm chất lượng ánh sáng (bước sóng), cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang [52]. Đây là nguồn năng lượng chủ yếu cung cấp cho quá trình quang hợp – cơ chế chuyển hóa năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học trong lục lạp [53]. Quang hợp bị chi phối mạnh bởi cường độ bức xạ, ảnh hưởng đến hiệu suất quang năng và các hoạt động sinh lý khác của cây.

Dưới điều kiện ánh sáng yếu, lục lạp thường dịch chuyển về phía lớp tế bào trên để tối ưu hóa việc hấp thụ ánh sáng. Cây trồng trong điều kiện thiếu sáng thường tích lũy lượng chlorophyll cao hơn so với cây phát triển trong điều kiện ánh sáng mạnh, giúp duy trì hiệu suất quang hợp trong môi trường hạn chế ánh sáng [54].

Ngược lại, quá trình sinh tổng hợp các hợp chất phenolic và flavonoid lại phụ thuộc mạnh mẽ vào cường độ chiếu sáng. Các hợp chất này được kích thích tổng hợp khi cây tiếp xúc với ánh sáng, đặc biệt là ánh sáng có năng lượng cao. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh mối liên hệ tích cực giữa ánh sáng và hàm lượng phenolic, flavonoid trong mô thực vật [55]. Flavonoid, đặc biệt là các flavonol và

catechin, có vai trò bảo vệ thực vật trước tác động gây hại của tia UV, do đó chúng thường được sinh tổng hợp nhiều hơn trong điều kiện ánh sáng mạnh [56]. Gần đây, Wang và cs. (2022) đã chứng minh rằng cường độ ánh sáng cao thúc đẩy sự tích lũy flavonoid ở cây kiêu mạch [57].

Điều kiện che bóng hoặc thiếu ánh sáng có ảnh hưởng tiêu cực đến tổng hợp flavonoid. Ye và cs. (2021) khẳng định rằng che sáng làm giảm đáng kể hàm lượng flavonoid, đặc biệt là các flavonol glycoside và catechin – những hợp chất chính quyết định chất lượng lá trà (*Camellia sinensis*) [58]. Tương tự, Karimi và cs. (2013) cũng ghi nhận ảnh hưởng của mức độ chiếu sáng khác nhau trong nhà kính lên cây *Labisia pumila*. Kết quả cho thấy ánh sáng mạnh không chỉ làm tăng tích lũy phenolic và flavonoid mà còn làm tăng hoạt tính chống oxy hóa ở cả lá, thân và rễ – trong đó lá là bộ phận tích lũy mạnh nhất [59].

Như vậy, cường độ ánh sáng là yếu tố then chốt ảnh hưởng đến sự tích lũy các hợp chất sinh học trong thực vật. Trong khi ánh sáng yếu thúc đẩy tích lũy chlorophyll nhằm duy trì hiệu suất quang hợp, thì ánh sáng mạnh lại là điều kiện tối ưu để tăng sinh các chất chuyển hóa thứ cấp như flavonoid và phenolic. Tuy nhiên, phản ứng tích lũy các hợp chất này còn phụ thuộc vào đặc điểm sinh lý và mức độ thích nghi riêng của từng loài cây, do đó việc thiết lập điều kiện ánh sáng phù hợp là cần thiết để tối ưu hóa hiệu quả sinh học của cây trồng.

## **1.4. Phương pháp sử dụng trong chế biến bột lá lúa**

### **1.4.1. Dung môi sử dụng trong chiết xuất**

Chiết xuất bằng dung môi là một trong những kỹ thuật phổ biến nhất để tách các hợp chất chống oxy hóa từ thực vật. Một dung môi lý tưởng cần đáp ứng các tiêu chí như: độc tính thấp, dễ bay hơi ở nhiệt độ thấp, khả năng thúc đẩy hấp thu sinh học của dịch chiết, hỗ trợ bảo quản, đồng thời không gây biến tính hay phân hủy các thành phần hoạt chất [60]. Do dịch chiết sau cùng có thể còn sót lại một lượng nhỏ dung môi, việc lựa chọn dung môi không độc hại là yêu cầu bắt buộc, đặc biệt trong các nghiên cứu đánh giá hoạt tính sinh học hoặc ứng dụng thực tiễn.

Ethanol và nước là hai dung môi được sử dụng rộng rãi trong chiết xuất các hợp chất chống oxy hóa từ thực vật và thực phẩm có nguồn gốc thực vật. Đây là các dung môi phân cực, an toàn cho sức khỏe con người, đồng thời có khả năng hoà tan tốt nhiều nhóm hợp chất sinh học, đặc biệt là flavonoid và polyphenol – những chất có độ phân cực cao [61]. Nghiên cứu của Zeroual và cs. (2022) cho

thấy, chiết xuất bằng ethanol từ cây hương thảo cho hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng cao hơn so với các dung môi khác [62].

Không chỉ loại dung môi, mà nồng độ và tỷ lệ pha loãng dung môi cũng đóng vai trò quan trọng trong hiệu quả chiết xuất. Cụ thể, chiết xuất bằng ethanol 50% từ lá Katuk cho kết quả thu nhận polyphenol và flavonoid cao hơn so với ethanol 70% và 96% [63]. Tương tự, nghiên cứu của Berwal và cs. (2021) trên nụ và lá cây *Calligonum polygonoides* sử dụng các dung môi ethanol, methanol và acetone ở ba nồng độ (50%, 75%, 100%) đã ghi nhận nồng độ 50% của mỗi dung môi đều cho hiệu quả chiết xuất và hoạt tính chống oxy hóa cao hơn các nồng độ còn lại [64].

Vì vậy, việc lựa chọn loại dung môi, nồng độ và điều kiện chiết tách cần được thiết kế và tối ưu hóa theo từng loại nguyên liệu thực vật nhằm đảm bảo sự tương thích về độ phân cực và tính chất hóa học của các hợp chất mục tiêu. Trong nghiên cứu với lá lúa, lựa chọn dung môi phù hợp không chỉ quyết định đến hiệu suất chiết xuất mà còn ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng sinh học và tiềm năng ứng dụng của sản phẩm chiết thu được.

#### **1.4.2. Phương pháp bất hoạt enzyme**

Bất hoạt enzyme là quá trình làm mất hoạt tính hoặc phá hủy các enzyme oxy hóa có trong mô thực vật, nhằm kiểm soát quá trình oxy hóa, cố định màu xanh tự nhiên của lá và bảo vệ các hợp chất hữu cơ có hoạt tính sinh học [65]. Enzyme polyphenol oxidase (PPO) đóng vai trò chính trong quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic, là nguyên nhân gây hiện tượng hóa nâu không mong muốn trong thực phẩm và nguyên liệu thực vật [66]. Do đó, việc ức chế hoạt động của PPO là cần thiết để ngăn ngừa sự suy giảm chất lượng cảm quan và dinh dưỡng, bao gồm màu sắc, mùi vị, cấu trúc và khả năng chấp nhận tổng thể của sản phẩm.

Trong công nghiệp thực phẩm, nhiều phương pháp đã được áp dụng để bất hoạt enzyme PPO, bao gồm chần nhiệt, xử lý vi sóng và siêu âm [67]. Ví dụ, nghiên cứu trên chiết xuất quả lựu (*Punica granatum L.*) ghi nhận hoạt tính PPO giảm 76% khi chần ở 90°C trong 30 giây, và giảm 68% khi chần ở 100°C trong 60 giây [68]. Tương tự, Magangana và cs. (2022) cho thấy chần vỏ lựu ở 80°C trong 3 phút làm giảm 40–50% hoạt tính PPO [69]. Ngoài tác dụng ức chế enzyme, các phương pháp này còn được đánh giá về khả năng bảo tồn chlorophyll và polyphenol trong nguyên liệu [70]. Việc áp dụng vi sóng để xử lý lá dừa có ảnh hưởng đến hàm lượng chlorophyll và polyphenol, tùy thuộc vào thời gian và công suất vi sóng [71].

Tuy nhiên, việc xử lý nhiệt đôi khi gây suy giảm hàm lượng chlorophyll, như đã được ghi nhận trong các nghiên cứu trên lá *Cinnamomum porfectum* [72] và *Ocimum basilicum* [73]. Do đó, nhiều công trình đề xuất sử dụng các phương pháp kết hợp để nâng cao hiệu quả bất hoạt enzyme mà vẫn bảo tồn các hợp chất sinh học quan trọng. Ví dụ, Anaya-Esparza và cs. (2017) cho rằng sự kết hợp giữa siêu âm và kiểm soát nhiệt độ giúp tăng hiệu quả ức chế PPO trong chế biến mật hoa măng cầu xiêm [74]. Nghiên cứu của Xin và cs. (2015) trên lá ngải cứu ghi nhận phương pháp siêu âm kết hợp nhiệt đạt hiệu quả ức chế PPO cao hơn (92,7%) và giữ lại chlorophyll nhiều hơn (96,7%) so với phương pháp chân nhiệt thông thường [75].

Việc lựa chọn phương pháp bất hoạt enzyme phụ thuộc vào loại nguyên liệu, mục tiêu sản phẩm và đặc tính hoá học của hợp chất cần bảo tồn. Đối với lá lúa, nghiên cứu về kỹ thuật bất hoạt enzyme vẫn còn hạn chế. Do đó, cần triển khai các nghiên cứu nền tảng nhằm thiết lập quy trình chế biến phù hợp, tối ưu hiệu quả bảo tồn chlorophyll và polyphenol, góp phần nâng cao chất lượng sinh học và giá trị ứng dụng của BLL.

### **1.4.3. Phương pháp sấy phun**

Sấy phun là một trong những kỹ thuật quan trọng và được ứng dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm, đặc biệt để sản xuất các sản phẩm dạng bột [76]. Phương pháp này sử dụng nhiệt độ đầu vào từ 120°C đến 190°C để nhanh chóng làm khô nguyên liệu dạng lỏng thành dạng bột mịn. Trong quá trình sấy phun, các chất mang được bổ sung nhằm bảo vệ các hợp chất nhạy cảm, tăng cường độ ổn định và cải thiện đặc tính cảm quan của sản phẩm. Trong số các chất mang phổ biến, maltodextrin (MD) – một polysaccharide có nguồn gốc từ tinh bột – được sử dụng nhiều nhất nhờ các ưu điểm như chi phí thấp, độ hòa tan cao, độ nhớt thấp ở nồng độ chất rắn cao, khả năng tạo màng bao tốt và bảo vệ hợp chất sinh học khỏi quá trình oxy hóa [77].

Việc tối ưu các thông số vận hành như nhiệt độ, áp suất, tốc độ cấp liệu, lưu lượng khí và tỷ lệ chất mang đóng vai trò quan trọng để nâng cao hiệu suất thu hồi hợp chất sinh học. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả của sấy phun trong bảo tồn các hợp chất phenolic và flavonoid cũng như khả năng chống oxy hóa của sản phẩm. Ví dụ, bột tỏi đen (*Allium sativum* L.) sấy phun ở 225°C cho hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số cao cùng hoạt tính chống oxy hóa mạnh [78]. Buratto và cs. (2019) khi nghiên cứu chiết xuất quả *Feijoa sellowiana* cũng ghi nhận sấy phun giúp giữ lại hàm lượng hợp chất sinh học cao [79]. Júnior và

cs. (2023) áp dụng sấy phun cho chiết xuất vỏ quả *Spondias purpurea* và đạt hiệu suất đóng gói tới 98,83% với hạt bột mịn, có kích thước đồng đều, đồng thời thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do (DPPH, FRAP) vượt trội [80].

Chất mang MD đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ và ổn định các hợp chất sinh học trong quá trình sấy phun. Nghiên cứu của Iturri và cs. (2021) trên bột từ quả *Eugenia stipitata* cho thấy MD giúp bảo tồn hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng chống oxy hóa trong quá trình bảo quản [81]. Rezende và cs. (2018) cũng báo cáo rằng MD cải thiện độ ổn định của anthocyanin, carotenoid, ascorbic acid và các hợp chất phenolic trong bột sơ ri (*Malpighia emarginata*) [82].

Nồng độ MD tối ưu có thể khác nhau tùy thuộc vào loại nguyên liệu. Ví dụ, chiết xuất lá dâu tằm cho kết quả tốt nhất với MD 12% [83], trong khi bột tỏi đen đạt chất lượng tối ưu với MD 8% [78]. Saavedra-Leos và cs. (2021) nghiên cứu tối ưu hóa sấy phun nước ép bông cải xanh với MD ở nồng độ 5% kết hợp nhiệt độ 220°C đạt hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất [84].

Sấy phun được đánh giá là một phương pháp hiệu quả, kinh tế và linh hoạt trong công nghiệp thực phẩm. Phương pháp này có khả năng chuyển đổi nhanh chóng nguyên liệu từ dạng lỏng sang dạng bột ổn định, dễ bảo quản, đồng thời bảo vệ tốt các hợp chất sinh học. Do đó, sấy phun là lựa chọn tiềm năng để sản xuất bột từ lá lúa non, vừa tiết kiệm chi phí, vừa đảm bảo giữ lại tối đa giá trị dinh dưỡng và hoạt tính sinh học của nguyên liệu.

### **1.5. Vi sinh vật đường ruột và ảnh hưởng của sản phẩm thực vật**

Hệ vi sinh vật đường ruột (VSVĐR) là một quần xã vi sinh vật đa dạng cư trú trong đường tiêu hóa, đóng vai trò thiết yếu trong việc duy trì sức khỏe và cân bằng sinh lý của vật chủ [85]. VSVĐR bình thường hỗ trợ bảo vệ hàng rào niêm mạc ruột, tham gia chuyển hóa dinh dưỡng, cân bằng nội môi năng lượng, ức chế sự xâm nhập của mầm bệnh và điều hòa đáp ứng miễn dịch. Hoạt động trao đổi chất của VSVĐR có tác động sâu rộng đến cân bằng nội môi và nhiều bệnh lý ở người [86]. Khoảng 10% các chất chuyển hóa có trong máu của động vật có vú có nguồn gốc trực tiếp từ vi khuẩn đường ruột [85]. Thông qua quá trình lên men, VSVĐR sản xuất các fatty acid chuỗi ngắn (short chain fatty acid - SCFA) như acetate, propionate và butyrate, mang lại nhiều lợi ích như ức chế vi khuẩn gây bệnh, duy trì chức năng ruột kết và hỗ trợ phòng ngừa béo phì, ung thư đại trực tràng [87].

Cơ thể con người chứa khoảng 38 nghìn tỷ vi khuẩn, chủ yếu tập trung ở ruột, đặc biệt là ruột kết [88]. Ít nhất 395 kiểu hình vi khuẩn đã được xác định trong niêm mạc ruột và phân, trong đó hơn 90% thuộc hai ngành chính là *Bacteroidetes* và *Firmicutes*. Trên mô hình chuột, *Proteobacteria* và *Lactobacillales* – các vi khuẩn kỵ khí phân chia nhanh – chiếm ưu thế ở ruột non, trong khi *Bacteroidales* và *Clostridiales* đóng vai trò chủ đạo trong chuyển hóa ở ruột già [89].

Việc tiêu thụ thực phẩm có nguồn gốc thực vật đã được chứng minh có tác động tích cực đến thành phần và chức năng của hệ VSVĐR. Đặc biệt, các hợp chất sinh học như polyphenol có khả năng điều chỉnh cấu trúc VSVĐR [90]. Chiết xuất thực vật không chỉ làm tăng số lượng vi khuẩn có lợi mà còn thúc đẩy sản xuất SCFA và ức chế vi khuẩn gây bệnh trên mô hình động vật [91]. Việc bổ sung chiết xuất thực vật cũng góp phần cải thiện tính đa dạng vi sinh, điều chỉnh tỷ lệ *Firmicutes/Bacteroidetes* và hỗ trợ sức khỏe trong các rối loạn chuyển hóa [92]. Liang và cs. (2023) báo cáo rằng polysaccharide từ quả *Lycium barbarum* kích thích sự phát triển của *Lactobacillus* và *Lactococcus*, đồng thời gia tăng sản xuất SCFA ở chuột [93]. Pérez-Burillo và cs. (2020) báo cáo chiết xuất thực vật thúc đẩy sự phát triển của các vi khuẩn sản xuất butyrate như *Coprococcus* và *Butyricimonas*, đồng thời ức chế *Escherichia/Shigella* – nhóm vi khuẩn liên quan đến rối loạn tiêu hóa, đồng thời tăng *Faecalibacterium*, một vi khuẩn sản xuất butyrate có lợi [87].

Polyphenol thể hiện cơ chế tương tác hai chiều với VSVĐR. Một mặt, vi khuẩn đường ruột chuyển hóa polyphenol thành các chất chuyển hóa có hoạt tính sinh học; mặt khác, polyphenol điều chỉnh thành phần VSVĐR, ức chế vi khuẩn gây bệnh và kích thích vi khuẩn có lợi [91,94]. Nghiên cứu của Jia và cs. (2022) cho thấy polyphenol từ gạo màu làm tăng *Prevotella*, *Megamonas* và *Bifidobacterium*, đồng thời giảm *Bacteroides* và *Escherichia-Shigella* [92]. Polyphenol từ cám gạo đen đã được chứng minh có khả năng cải thiện béo phì và rối loạn chuyển hóa bằng cách điều chỉnh thành phần VSVĐR, đồng thời tác động đến chuyển hóa lipid và glucose [95].

Các chất chuyển hóa thứ cấp từ quá trình phân giải của VSVĐR sở hữu hoạt tính chống oxy hóa và chống viêm, giúp giảm stress oxy hóa, ức chế cytokine tiền viêm, bảo vệ hàng rào niêm mạc ruột và điều hòa miễn dịch [96]. Do đó, can thiệp dinh dưỡng dựa trên thực vật được xem là một chiến lược tiềm năng nhằm điều chỉnh hệ VSVĐR và cải thiện sức khỏe toàn diện của vật chủ.

## 1.6. Các thử nghiệm đánh giá hoạt tính chống oxy hoá

Hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất sinh học thường được đánh giá thông qua các thử nghiệm *in-vitro* dựa trên hai cơ chế chính: chuyển electron đơn (Single electron transfer – SET) và chuyển nguyên tử hydro (Hydrogen atom transfer – HAT). Trong đó, các phép thử thuộc nhóm SET đo lường khả năng của mẫu thử trong việc cho electron để trung hòa các chất oxy hóa hoặc kim loại chuyển tiếp. Cơ chế này phản ánh trực tiếp năng lực khử của chất chống oxy hóa và có mối tương quan chặt chẽ với hàm lượng polyphenol, flavonoid và các hợp chất phenolic [97].

Bốn phép thử phổ biến thuộc nhóm SET bao gồm xét nghiệm DPPH, ABTS (hoặc TEAC), FRAP và RP, mỗi phương pháp sử dụng một cơ chất oxy hóa đặc trưng nhưng đều dựa trên nguyên lý thay đổi màu sắc khi cơ chất oxy hóa bị khử bởi chất chống oxy hóa [98].

### 1.6.1. Thử nghiệm khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH

DPPH (2,2-di-phenyl-1-picrylhydrazyl) là một gốc tự do ổn định có màu tím đậm, với đỉnh hấp thụ cực đại tại bước sóng 517 nm. Khi phản ứng với các chất chống oxy hóa có khả năng hiến tặng electron hoặc proton, gốc DPPH $\cdot$  bị khử thành dạng không màu. Mức độ giảm độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm phản ánh trực tiếp khả năng chống oxy hóa của mẫu thử. Phép thử DPPH có ưu điểm đơn giản, nhanh và được sử dụng rộng rãi để đánh giá khả năng trung hòa gốc tự do của các hợp chất phenolic [99].

### 1.6.2. Thử nghiệm khả năng chống oxy hóa tương đương Trolox (ABTS)

ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) được oxy hóa để tạo thành gốc cation ABTS $^{+\bullet}$  có màu xanh lam đặc trưng, với đỉnh hấp thụ cực đại tại bước sóng 734 nm. Khi có mặt các chất chống oxy hóa, gốc cation này bị khử, dẫn đến sự giảm hoặc mất màu của dung dịch. Mức độ giảm độ hấp thụ được quy đổi thành giá trị tương đương Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity – TEAC), cho phép so sánh trực tiếp hoạt tính chống oxy hóa của mẫu với Trolox, một dẫn xuất tan trong nước của vitamin E. Phép thử ABTS có ưu điểm là thực hiện được trong cả môi trường kỵ nước và ưa nước, do đó được xem là phương pháp linh hoạt và đáng tin cậy trong đánh giá phổ hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất sinh học [99].

### 1.6.3. Thử nghiệm khử sắt FRAP

Phép thử FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) được xây dựng dựa trên nguyên lý khử phức Fe $^{3+}$ -TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) thành Fe $^{2+}$ -

TPTZ, tạo ra dung dịch có màu xanh đậm đặc trưng, được đo tại bước sóng 593 nm. Cường độ màu xanh tỷ lệ thuận với khả năng khử của mẫu thử. Khác với các phép thử DPPH và ABTS, FRAP không đánh giá khả năng bắt gốc tự do, mà phản ánh trực tiếp năng lực hiến electron của hợp chất chống oxy hóa trong việc khử ion sắt ( $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ), từ đó cho thấy tiềm năng chống oxy hóa tổng thể của mẫu [98].

#### 1.6.4. Thử nghiệm năng lực khử (Reducing Power – RP)

Phép thử RP (Reducing Power) được sử dụng để đánh giá khả năng hiến electron của các hợp chất chống oxy hóa, thông qua phản ứng khử ion  $\text{Fe}^{3+}$  thành  $\text{Fe}^{2+}$  trong môi trường đệm phosphate. Ion  $\text{Fe}^{2+}$  tạo thành sẽ phản ứng với potassium ferricyanide [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] để hình thành phức màu xanh Prussian Blue, được đo tại bước sóng 700 nm. Giá trị mật độ quang học tăng tỷ lệ thuận với năng lực khử của mẫu, qua đó phản ánh tiềm năng hiến electron và khả năng chống oxy hóa tổng thể của các hợp chất sinh học được khảo sát. So với các phép thử DPPH, ABTS và FRAP, phương pháp RP cho phép đánh giá trực tiếp hoạt tính khử tổng hợp của mẫu trong điều kiện phản ứng nhẹ, đồng thời có thể ứng dụng linh hoạt cho cả mẫu chiết hữu cơ và nước [98].

Nhìn chung, các phép thử DPPH, ABTS, FRAP và RP đều dựa trên cơ chế chuyển electron đơn, giúp đánh giá tiềm năng chống oxy hóa tổng thể của mẫu thử. Tuy nhiên, kết quả giữa các phép thử có thể khác nhau do đặc điểm hóa học của gốc tự do, môi trường phản ứng và độ hòa tan của chất chống oxy hóa [100]. Do đó, để có cái nhìn toàn diện, các nghiên cứu thường kết hợp nhiều phép thử khác nhau nhằm đánh giá đầy đủ cơ chế và cường độ chống oxy hóa của hợp chất sinh học.

Việc lựa chọn các phép thử thuộc nhóm chuyển electron đơn (SET) như DPPH, ABTS/TEAC, FRAP và RP để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của BLL non là hoàn toàn phù hợp, bởi thành phần chính của BLL chứa polyphenol, flavonoid – những hợp chất có cơ chế chống oxy hóa chủ yếu thông qua hiến tặng electron và tạo phức chelating với ion kim loại chuyển tiếp. Các phép thử SET không chỉ phản ánh khả năng trung hòa gốc tự do mà còn đánh giá năng lực khử tổng thể của mẫu, qua đó cung cấp cái nhìn toàn diện về tiềm năng chống oxy hóa của BLL. Kết hợp nhiều xét nghiệm SET giúp xác nhận đồng thời khả năng quét gốc tự do và khả năng khử kim loại, làm rõ vai trò của các hợp chất phenolic và chlorophyll trong BLL, đồng thời củng cố cơ sở khoa học cho tiềm năng ứng dụng của BLL trong thực phẩm chức năng và sản phẩm bảo vệ sức khỏe.

## 1.7. Vi sinh vật gây bệnh sử dụng trong đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

### 1.7.1. Vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* (trực khuẩn mủ xanh) là vi khuẩn Gram âm, hiếu khí, thuộc họ *Pseudomonadaceae*, lớp *Gammaproteobacteria*. Vi khuẩn này nổi bật nhờ khả năng chuyển hóa linh hoạt, cho phép sinh trưởng trong nhiều môi trường tự nhiên và nhân tạo, kể cả môi trường thiếu oxy [101].

*P. aeruginosa* không sinh bào tử nhưng có thể gây nhiều loại nhiễm trùng trên cả vật chủ khỏe mạnh và suy giảm miễn dịch, đặc biệt nguy hiểm với bệnh nhân tiểu đường hoặc bệnh nhân xơ nang [102]. Đây là tác nhân chính của các bệnh như nhiễm trùng vết bỏng, viêm phổi, nhiễm khuẩn huyết và nhiễm trùng đường tiết niệu [103].

Khả năng thích nghi cao, nhiều cơ chế đề kháng kháng sinh và hệ thống phòng vệ phức tạp khiến *P. aeruginosa* trở thành mối đe dọa lớn trong y học hiện đại. Vi khuẩn này là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây nhiễm trùng bệnh viện, chiếm khoảng 11–13,8% các ca nhiễm tại cơ sở y tế, và là tác nhân hàng đầu gây tử vong ở bệnh nhân xơ nang [104].

### 1.7.2. Vi khuẩn *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* là vi khuẩn hình cầu Gram dương, không di động, thuộc họ *Micrococcaceae*, có khả năng sinh trưởng trong điều kiện hiếu khí hoặc kỵ khí tùy ý [105]. Vi khuẩn phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 7–48,5°C (tối ưu 30–37°C) và pH từ 4,2–9,3 (tối ưu 7–7,5), có thể tồn tại trong môi trường chứa tới 10% muối, cho phép phát triển trên nhiều loại thực phẩm.

*S. aureus* là tác nhân phổ biến gây ngộ độc thực phẩm và nhiễm trùng ở người. Mặc dù thường cư trú ở da và niêm mạc (đặc biệt vùng mũi) của người khỏe mạnh, vi khuẩn này có thể gây bệnh nếu xâm nhập vào máu hoặc các mô sâu [105]. Các bệnh lý do *S. aureus* gây ra rất đa dạng, bao gồm nhiễm khuẩn huyết, viêm phổi, viêm nội tâm mạc, viêm mô tế bào, viêm tủy xương, viêm khớp, nhiễm trùng tiết niệu và hội chứng sốc nhiễm độc [106].

Vi khuẩn này đặc biệt nguy hiểm trong môi trường bệnh viện, là nguyên nhân hàng đầu của nhiễm trùng liên quan đến dụng cụ y tế và phẫu thuật. Các chủng kháng thuốc như MRSA (Methicillin-resistant *S. aureus*) làm cho việc điều trị trở nên phức tạp, trong khi các cơ chế lẩn tránh miễn dịch giúp vi khuẩn tồn tại và tái nhiễm dễ dàng [107]. Do đó, *S. aureus* được xem là một trong những tác nhân gây bệnh cơ hội nguy hiểm nhất ở người hiện nay.

### 1.7.3. Vi khuẩn *Escherichia coli*

*Escherichia coli* là vi khuẩn gram âm, thuộc họ *Enterobacteriaceae*, thường cư trú trong đường ruột người và động vật, đặc biệt là ở ruột già. Ngoài ra, vi khuẩn còn có thể hiện diện ở miệng, cơ quan sinh dục và môi trường ngoài [108]. *E. coli* phát triển tốt ở 37°C, trong khoảng nhiệt độ 5–45°C và pH tối ưu từ 7–7,5.

Mặc dù là thành phần bình thường của hệ vi sinh đường ruột, *E. coli* cũng là tác nhân gây ra nhiều bệnh lý như viêm ruột, nhiễm trùng tiết niệu, nhiễm trùng huyết, viêm màng não ở trẻ sơ sinh. Vi khuẩn này sở hữu nhiều yếu tố độc lực có khả năng tác động đến tế bào chủ thông qua các cơ chế như ức chế truyền tín hiệu, rối loạn tiết ion, tổng hợp protein và phá vỡ cấu trúc tế bào [109]. Dựa vào vị trí gây bệnh, *E. coli* được phân thành hai nhóm chính: nhóm gây bệnh đường ruột và nhóm gây bệnh ngoài đường ruột. Các chủng gây bệnh đường ruột bao gồm: *E. coli* xuất huyết (EHEC), *E. coli* gây bệnh (EPEC), *E. coli* sinh độc tố ruột (ETEC), *E. coli* xâm nhập (EIEC), *E. coli* kết dính (EAEC), *E. coli* bám dính lan tỏa (DAEC) và *E. coli* xâm lấn bám dính (AIEC). Trong đó, EHEC không chỉ gây bệnh tiêu hóa mà còn liên quan đến hội chứng tán huyết tăng ure máu (HUS). Nhiều chủng *E. coli* là mầm bệnh truyền qua thực phẩm, gây ra các vụ dịch nguy hiểm tại nhiều quốc gia, đặc biệt ở các nước đang và kém phát triển [110].

Tình trạng kháng thuốc của *E. coli* đang là mối đe dọa toàn cầu. Vi khuẩn có tỷ lệ kháng cao với các kháng sinh truyền thống như ampicillin, đồng thời xuất hiện ngày càng nhiều chủng kháng fluoroquinolone và cephalosporin phổ rộng. Sự lan truyền gen kháng thuốc thông qua plasmid góp phần gia tăng nhanh chóng tỷ lệ đa kháng thuốc ở *E. coli*, trở thành mối lo ngại nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng [111].

### 1.7.4. Nấm *Candida albicans*

*Candida albicans* là nấm men thuộc chi *Candida*, thường cư trú như một sinh vật cộng sinh trên da và niêm mạc miệng, đường tiêu hóa, đường sinh dục của người và động vật [112]. Đây là loài nấm cơ hội phổ biến nhất có khả năng chuyển từ trạng thái cộng sinh sang gây bệnh khi hàng rào bảo vệ của vật chủ bị suy yếu, đặc biệt trong bối cảnh sử dụng kháng sinh phổ rộng hoặc thuốc ức chế miễn dịch [113].

*C. albicans* là nguyên nhân gây ra các bệnh nhiễm nấm bề mặt như viêm da, viêm niêm mạc miệng, viêm âm đạo – và trong các trường hợp nghiêm trọng hơn, có thể gây nhiễm nấm toàn thân đe dọa tính mạng, đặc biệt ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch [114]. Điều trị nhiễm *Candida* hiện gặp nhiều thách thức do số

lượng thuốc chống nấm hạn chế và độc tính cao do đặc điểm nhân chuẩn của nấm [115]. Bên cạnh đó, tình trạng kháng thuốc ngày càng gia tăng ở các chủng *Candida* khiến việc điều trị càng phức tạp hơn.

### **1.8. Các nghiên cứu trong và ngoài nước về hoạt tính sinh học của lá lúa và sản phẩm từ lá lúa**

#### **1.8.1. Nghiên cứu ngoài nước**

Các nghiên cứu quốc tế về lá lúa chủ yếu tập trung vào việc đánh giá thành phần hoá học và hàm lượng các hợp chất sinh học của lá lúa ở các giống lúa khác nhau, đặc biệt trong giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng. Chẳng hạn, Tamprasit và cs. (2019) đã nghiên cứu ảnh hưởng của độ tuổi lá lúa (từ 5 - 25 ngày) đến hàm lượng các hợp chất sinh học cho thấy sự biến đổi đáng kể theo thời gian thu hoạch [29]. Tương tự, Khanthapok và cs. (2015) đã khảo sát trên 14 giống lúa *O. sativa* bao gồm bảy giống gạo trắng và bảy giống gạo màu dao động từ 1,9 đến 4,3 mg tương đương gallic acid (GAE)/g dịch chiết khô, với các giống gạo màu thể hiện hàm lượng polyphenol cao nhất [26]. Nghiên cứu của Sakulnarmrat và cs. (2018) trên hai giống lúa (gạo trắng và gạo đen) ở giai đoạn 10 ngày tuổi cũng báo cáo thành phần và hàm lượng polyphenol thay đổi tùy thuộc vào giống lúa; Gallic acid là hợp chất phenolic chính trong dịch chiết lá lúa gạo trắng, trong khi chlorogenic acid chiếm ưu thế trong dịch chiết lá lúa gạo đen [30]. Phân tích sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) trên các fatty acid trong lá lúa ghi nhận sự hiện diện của các fatty acid tương đồng ở cả 02 giống lúa, bao gồm palmitic acid, stearic acid, linoleic acid và  $\alpha$ -linolenic acid. Các dẫn xuất fatty acid dễ bay hơi này được xác định là yếu tố chính tạo nên mùi hương tươi mát đặc trưng của lá lúa [30].

Về ứng dụng thực tiễn, một số nghiên cứu đã phát triển sản phẩm nước uống từ dịch chiết lá lúa. Wangcharoen và Phimphilai (2016) đã khảo sát nước uống từ dịch chiết lá lúa của ba giống (Jasmine, Sukhothai 1 và Sukhothai 2), trong 200 mL có hàm lượng chlorophyll tổng dao động từ 82 - 958  $\mu$ g, hàm lượng phenolic tổng tương đương 5,60 - 26,14 mg GAE và khả năng chống oxy hoá qua các thử nghiệm ABTS và FRAP đạt giá trị tương ứng 17,88 - 35,18 mg vitamin C và 5,66 - 23,70 mg FeSO<sub>4</sub> [7]. Nước uống từ lá lúa của giống Jasmine và Sukhothai 2 cho thấy có hoạt tính chống oxy hóa vượt trội so với giống Sukhothai 1, lúa mì và lúa mạch, đồng thời hàm lượng polyphenol tổng được xác định có mối tương quan chặt chẽ với hoạt tính chống oxy hóa [7]. Những kết quả này khẳng định tiềm năng của nước ép lá lúa như một loại thức uống giàu chất chống oxy hoá.

Hoạt tính chống oxy hóa của lá lúa cũng là chủ đề được quan tâm trong nhiều nghiên cứu. Chomchan và cs. (2016) đã báo cáo rằng dịch chiết lá lúa gạo có hoạt tính chống oxy hóa thấp hơn so với dịch chiết lá lúa mì trong các thử nghiệm DPPH, ABTS, FRAP, FCA (khử ion sắt) và HRSA (quét gốc hydroxyl) [6]. Tuy nhiên, kết quả này trái ngược với nghiên cứu của Wangcharoen và Phimphilai (2016), trong đó dịch chiết nước lá lúa cho hoạt tính chống oxy hóa (ABTS và FRAP) cao hơn so với dịch chiết nước lá lúa mì và lá lúa mạch [7]. Khanthapok và cs. (2015) sử dụng 14 giống lúa để đánh giá khả năng chống oxy hóa thông qua các thử nghiệm DPPH, FRAP, BCB (khử  $\beta$ -carotene) và TBARS (phản ứng thiobarbituric acid), kết luận rằng dịch chiết từ lá lúa màu thể hiện hoạt tính chống oxy hóa vượt trội so với dịch chiết lá lúa trắng và lá lúa mì [26]. Nhìn chung, các nghiên cứu này khẳng định lá lúa, đặc biệt là giống lúa màu, sở hữu hoạt tính chống oxy hoá đáng kể thông qua các thử nghiệm *in-vitro*.

Về khả năng bảo vệ chống lại tổn thương oxy hóa và độc tính tế bào, Phimphilai và cs. (2021) phát hiện dịch chiết lá lúa từ giống Sukhothai-1 có khả năng loại bỏ gốc tự do ở gan, ức chế quá trình peroxid hóa lipid và thể hiện hoạt tính thải sắt FRAP [39]. Đồng thời, bổ sung dịch chiết lá lúa làm giảm đáng kể nồng độ TBARS trong tế bào ung thư gan người (HepG2) bị tổn thương bởi hydro peroxit và không gây độc tế bào gan, cũng như không gây độc tính cấp/mãn tính trên mô hình động vật [39]. Khanthapok và cs. (2015) báo cáo dịch chiết lá lúa màu chứa hàm lượng anthocyanin cao, có khả năng phục hồi tổn thương DNA do ion sắt và hydrogen peroxide gây ra [26]. Tương tự, lá lúa giống Biris (Malaysia) được ghi nhận có tác dụng bảo vệ DNA trước tổn thương do doxorubicin gây ra [116]. Ngoài ra, bổ sung dịch chiết lá lúa cải thiện đáng kể khả năng sống sót của tế bào cơ tim chuột mà không ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị doxorubicin trên tế bào ung thư [116]. Chomchan và cs. (2018) báo cáo rằng chiết xuất lá lúa (250-10.000  $\mu\text{g/mL}$ ) bảo vệ tế bào thận khỏi độc tính của cadmium clorua bằng cách giảm mức độ malondialdehyde và tổn thương DNA [23].

Về khả năng chống viêm và chống ung thư, chiết xuất lá lúa đen được ghi nhận có hoạt tính chống viêm thông qua điều hoà sự biểu hiện các yếu tố gây viêm [8,24]. Thepthanee và cs. (2021) đã chứng minh lá lúa đen kích thích gây chết theo chu trình (apoptosis) thông qua con đường ty thể và ức chế sự phát triển của tế bào ung thư gan ở người [8]. Nghiên cứu tiếp theo của Thepthanee và cs. (2022) phân tách dịch chiết ethyl acetate từ lá lúa đen thành năm phân đoạn, tất cả đều có hoạt tính ức chế sự phát triển của tế bào ung thư gan, vú và đại trực tràng [25].

Liên quan đến chống béo phì và tiểu đường, Sakulnarmrat và cs. (2018) phát hiện dịch chiết acetone từ lá lúa giống Jasmine ức chế mạnh mẽ enzym  $\alpha$ -amylase và lipase tuyến tụy, cho thấy tiềm năng trong kiểm soát béo phì và tiểu đường [30].

Tóm lại, các nghiên cứu quốc tế tập trung phân tích thành phần hợp chất sinh học trong lá lúa, so sánh hàm lượng các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa giữa các giống khác nhau. Các đặc tính chống oxy hoá, bảo vệ DNA, chống ung thư, béo phì, tiểu đường của lá lúa đã được đánh giá thông qua một số phương pháp *in-vitro* và *in-vivo* trên tế bào và mô hình động vật. Tuy nhiên, hiện chưa có nghiên cứu nào khảo sát sản phẩm BLL, cũng như đánh giá hiệu quả kháng khuẩn hoặc ảnh hưởng của chúng lên hệ vi sinh đường ruột.

### 1.8.2. Nghiên cứu trong nước

Hiện nay, các nghiên cứu trong nước chưa ghi nhận công trình nào tập trung vào việc khai thác tiềm năng của lá lúa non. Tuy nhiên một số nghiên cứu liên quan đã được thực hiện nhằm đánh giá hàm lượng các hợp chất sinh học, tối ưu hoá điều kiện chế biến sản phẩm dạng bột, cũng như khảo sát khả năng chống oxy hoá và kháng khuẩn từ các loài thực vật khác.

Nghiên cứu của Đỗ Tấn Khang và cs. (2018) đã so sánh hàm lượng hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hoá của các phân đoạn dịch chiết từ gạo mầm và gạo lứt. Kết quả ghi nhận hàm lượng polyphenol tổng trong phân đoạn nước của gạo lứt cao hơn gấp 4 lần so với gạo mầm [117]. Về hoạt tính chống oxy hoá, phân đoạn ethyl acetate từ gạo mầm thể hiện khả năng ức chế gốc tự do DPPH cao nhất (trên 50%) trong khi phân đoạn chloroform trong gạo lứt đạt hiệu quả tối ưu trong thử nghiệm ABTS. Ngoài ra, tất cả các phân đoạn đều cho khả năng khử sắt (RP) ở mức cao nhất [117]. La Thị Hiền và cs. (2017) đã khảo sát các điều kiện chiết xuất chất chống oxy hóa từ lá đắng (*Vernonia amygdalina*) bằng dung môi nước [118]. Kết quả cho thấy điều kiện chiết xuất tối ưu là 70°C trong 40 phút với tỷ lệ nguyên liệu:dung môi 1:30, đạt hiệu suất chiết xuất cao nhất [118].

Nghiên cứu của Võ Tú Anh và cs. (2017) đã đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hoá của cao chiết từ thân và lá cây Bọ Mắm (*Pouzolzia zeylanica* L.) sử dụng các dung môi khác nhau [119]. Tác giả báo cáo rằng tất cả các cao chiết đều có khả năng ức chế vi khuẩn *E. coli*, *P. aeruginosa* và *S. aureus*, với hiệu quả kháng khuẩn vượt trội hơn so với amoxicillin. Đồng thời, các cao chiết thân và lá Bọ Mắm thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH, dù hoạt tính kháng oxy hóa thấp hơn vitamin C [119].

Cao Thị Ngọc Ánh và Mạc Thị Hà Thanh (2019) đã nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp sấy phun đến chất lượng sản phẩm bột từ cây nhàu (*Morinda citrifolia* L.) bao gồm khả năng chống oxy hoá và kháng khuẩn. Kết quả chỉ ra sấy phun ở 160°C trong 5 giây tạo ra sản phẩm bột có giá trị dinh dưỡng, hàm lượng vitamin C và polyphenol tổng số cao hơn so với các mức nhiệt độ 140°C và 180°C. Hoạt tính chống oxy hoá (thử nghiệm DPPH) đạt IC<sub>50</sub> là 2,9 mg/mL, đồng thời khả năng kháng khuẩn đối với *E. coli* (đường kính vòng ức chế 4,5 mm) và *Bacillus subtilis* (3,5 mm) cũng đạt cao nhất ở điều kiện này [120].

Về chiết xuất chlorophyll và polyphenol ứng dụng trong thực phẩm, nghiên cứu của Lê Thị Hồng Ánh và cs. (2016) đã phát triển quy trình sản xuất bột màu chlorophyll từ rong nước lợ *Cheatomorpha* sp. bằng công nghệ sấy phun. Sản phẩm thu được là bột màu xanh mịn, độ ẩm thấp, tan tốt trong nước với hiệu suất thu hồi chlorophyll đạt 62,96% [121]. Nghiên cứu của Trương Quốc Tất và cs. (2021) về sản xuất bột rau càng cua (*Peperomia pellucida*) sử dụng ethanol 70% và sấy ở 70°C đã bảo toàn hàm lượng hợp chất sinh học và đạt hoạt tính chống oxy hoá cao nhất [122]. Ngoài ra, Nguyễn Nhật Minh Phương và Nguyễn Hữu Nhân (2022) đã khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất chlorophyll và polyphenol từ lá dứa (*Pandanus amaryllifolius*). Điều kiện tối ưu là chiết xuất bằng ethanol 80% ở 80°C trong 20 phút với tỷ lệ nguyên liệu:dung môi 1:20 (w/v) đạt hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính chống oxy hoá cao [123]. Sử dụng chất mang albumin 10% và sấy ở 60-65°C cũng được xác định là phù hợp để ổn định các hợp chất sinh học trong sản phẩm cuối.

Tóm lại, qua tổng quan các công trình trong và ngoài nước có thể nhận thấy rằng, phần lớn các nghiên cứu hiện nay tập trung vào xác định thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học cơ bản của các dịch chiết từ lá lúa, đặc biệt là hoạt tính chống oxy hóa, chống viêm và bảo vệ tế bào thông qua các thử nghiệm *in-vitro*. Một số nghiên cứu mở rộng sang mô hình *in-vivo* đã bước đầu chứng minh tính an toàn khi tiêu thụ dịch chiết lá lúa, tuy nhiên các công trình này chủ yếu sử dụng dịch chiết lỏng, chưa đi vào quá trình ứng dụng sản xuất sản phẩm dạng bột từ lá lúa non.

Bên cạnh đó, các nghiên cứu hiện có chưa xem xét mối liên hệ giữa thành phần hợp chất sinh học của lá lúa non với tác động lên hệ vi sinh vật đường ruột, cũng như chưa có công trình nào đánh giá đồng thời các đặc tính chống oxy hóa, kháng khuẩn và tác động sinh lý trong cùng một nghiên cứu tích hợp. Phần lớn các nghiên cứu trước đây chỉ dừng lại ở việc xác định hoạt tính chống oxy hóa *in-*

*vitro* mà thiếu các bằng chứng *in-vivo* về ảnh hưởng của sản phẩm lá lúa non đến cân bằng vi sinh vật đường ruột và sức khỏe tiêu hóa động vật.

Tại Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu hệ thống về sản phẩm BLL hoặc bột cao chiết lá lúa non. Vì vậy, việc xây dựng quy trình thu nhận bột cao chiết lá lúa non, đồng thời đánh giá toàn diện hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn và tác động lên hệ vi sinh vật đường ruột là hướng nghiên cứu mới, có ý nghĩa khoa học và giá trị ứng dụng thực tiễn, góp phần mở rộng tiềm năng khai thác cây lúa như một nguồn nguyên liệu sinh học giá trị cao, bên cạnh vai trò cây lương thực.

## Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Phương tiện nghiên cứu

#### 2.1.1. Địa điểm nghiên cứu

- Trung tâm Ứng dụng Tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ (Địa chỉ: Số 166 Nguyễn Văn Cừ, P. An Bình, Q. Ninh Kiều, TP. Cần Thơ).

- Đại học Y Dược Cần Thơ (Địa chỉ: Số 179 Nguyễn Văn Cừ, P. An Khánh, Q. Ninh Kiều, TP. Cần Thơ).

#### 2.1.2. Vật liệu nghiên cứu

##### 2.1.2.1. Giống lúa sử dụng trong nghiên cứu

Tiêu chí lựa chọn giống lúa bao gồm:

- Khả năng kháng sâu bệnh tốt, giúp đảm bảo sinh trưởng ổn định và giảm tác động của dịch hại trong điều kiện canh tác bán tự nhiên.

- Khả năng thích nghi tốt trên nhiều loại đất, đặc biệt là các loại đất khó như đất nhiễm phèn, đất thấp, và có khả năng chịu ngập úng.

- Tiềm năng sinh khối cao, đặc biệt là sinh khối lá tươi, nhằm tối ưu hóa hàm lượng các hợp chất tự nhiên tích lũy trong lá lúa non, phục vụ cho các phân tích sinh hóa và đánh giá hoạt tính sinh học.

Dựa vào tiêu chí, nghiên cứu lựa chọn 06 giống lúa bao gồm hai giống thuộc nhóm lúa mùa truyền thống (lúa thơm và lúa có màu sắc) và một giống cao sản hiện đại (Bảng 2.1).

**Bảng 2.1. Các giống lúa sử dụng trong nghiên cứu**

| Nhóm giống lúa    | Giống lúa – Ký hiệu | Đặc điểm sinh học và canh tác                                                                                                                                                                                      |
|-------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Giống lúa cao sản | IR50404             | Giống lúa cao sản được trồng phổ biến tại Đồng bằng sông Cửu Long. Có thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao, dễ canh tác. Tuy nhiên, chất lượng gạo trung bình do hàm lượng amylose cao và tỷ lệ bạc bụng lớn. |
| Giống lúa thơm    | Nàng Thơm – NTH     | Giống lúa bản địa có hương thơm đặc trưng, giá trị cảm quan cao, được ưa chuộng tại thị trường trong nước và xuất khẩu.                                                                                            |
|                   | Tài Nguyên – TNG    | Giống lúa mùa truyền thống, có mùi thơm tự nhiên, được trồng rộng rãi tại khu vực ĐBSCL.                                                                                                                           |

| Nhóm giống lúa                | Giống lúa – Ký hiệu | Đặc điểm sinh học và canh tác                                                                                                                          |
|-------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                               | Hương Lài – HLA     | Còn gọi là Jasmine 85, là giống lúa thơm được lai tạo và cải tiến từ IRRI, có giá trị thương mại cao.                                                  |
| Giống lúa có màu sắc đặc biệt | Nếp Tím – NTI       | Giống lúa bản địa có vỏ trấu màu tím, giàu anthocyanin, tiềm năng sử dụng trong sản phẩm gạo chức năng và dược liệu.                                   |
|                               | Huyết Rồng – HRO    | Giống lúa bản địa có hạt màu đỏ sẫm, chứa nhiều hợp chất phenolic và anthocyanin, được định hướng phát triển trong lĩnh vực thực phẩm bảo vệ sức khỏe. |

Tất cả các giống được cung cấp bởi Tập đoàn Lộc Trời (Công ty Cổ phần Bảo vệ Thực vật An Giang).

#### 2.1.2.2. *Chủng vi sinh vật sử dụng trong thử nghiệm kháng khuẩn*

Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện trên ba chủng vi khuẩn chuẩn gồm: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 6432, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 và *Escherichia coli* ATCC 8739. Ngoài ra, chủng nấm gây bệnh thường gặp *Candida albicans* ATCC 10231 cũng được sử dụng để đánh giá khả năng kháng nấm. Các chủng vi sinh vật được lựa chọn là những nhóm đại diện tiêu biểu, phổ biến và có ý nghĩa lâm sàng trong đánh giá phổ kháng khuẩn và kháng nấm, đồng thời có cấu trúc tế bào đa dạng và phù hợp với tiêu chuẩn nghiên cứu khoa học. Điều này giúp đánh giá toàn diện tiềm năng kháng khuẩn của BLL và hỗ trợ định hướng ứng dụng thực tế.

Tất cả các chủng vi sinh vật trên được cung cấp bởi Phòng Vi sinh vật, Trung tâm Ứng dụng Tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ.

Môi trường nuôi cấy vi khuẩn là Luria–Bertani (LB) broth (Merk, Đức), trong khi môi trường nuôi cấy nấm là Sabouraud Dextrose (SD) broth (Himedia, Ấn Độ).

#### 2.1.2.3. *Động vật thí nghiệm*

Chuột thí nghiệm thuộc chủng BALB/c (*Mus musculus*), 8 tuần tuổi, khỏe mạnh, không mang mầm bệnh. Chuột được cung cấp bởi Đơn vị nghiên cứu động vật thực nghiệm, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

#### **2.1.2.4. Đất và nước sử dụng trong thí nghiệm**

Đất trồng được thu thập từ lớp đất mặt (0–20 cm) tại khu vực ruộng lúa thuộc xã Mỹ Khánh, huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ. Đây là loại đất phù sa có độ phì đồng đều, địa hình bằng phẳng và khả năng giữ nước tốt, phù hợp cho sự sinh trưởng của cây lúa.

Nước tưới được cung cấp từ hệ thống nước máy của Trung tâm Ứng dụng Tiên bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ, đảm bảo sạch và an toàn trong suốt quá trình thí nghiệm.

#### **2.1.3. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất**

Hóa chất bao gồm các chất chuẩn, thuốc thử và dung môi sử dụng trong các phân tích: Trolox (Sigma-Aldrich, USA), DPPH (Tokyo Chemical Industry, Japan), TPTZ (Sigma-Aldrich, Germany), ABTS (Sigma-Aldrich, Germany),  $K_3Fe(CN)_6$  (Xilong, China), gallic acid (Sigma-Aldrich, USA), ethanol và methanol (Merck, Germany), acetonitrile (Merck, Germany), thuốc thử Folin–Ciocalteu (Merck, Germany),  $Na_2CO_3$ , pyrocatechol, polyethylene glycol,  $Na_2HPO_4$ ,  $NaH_2PO_4$ ,  $H_2O_2$ , cồn tuyệt đối  $C_2H_5OH$ ,  $MgSO_4$ , NaCl, trisodium citrate  $Na_3C_6H_5O_7$ , disodium citrate sesquihydrate  $C_{12}H_{18}Na_4O_{17}$  (Sigma-Aldrich, USA), ampicillin (Domesco, Việt Nam), metronidazol (STADA, Việt Nam), vitamin C (DMS-Firmenich, China), maltodextrin DE (VMC Group, Indonesia).

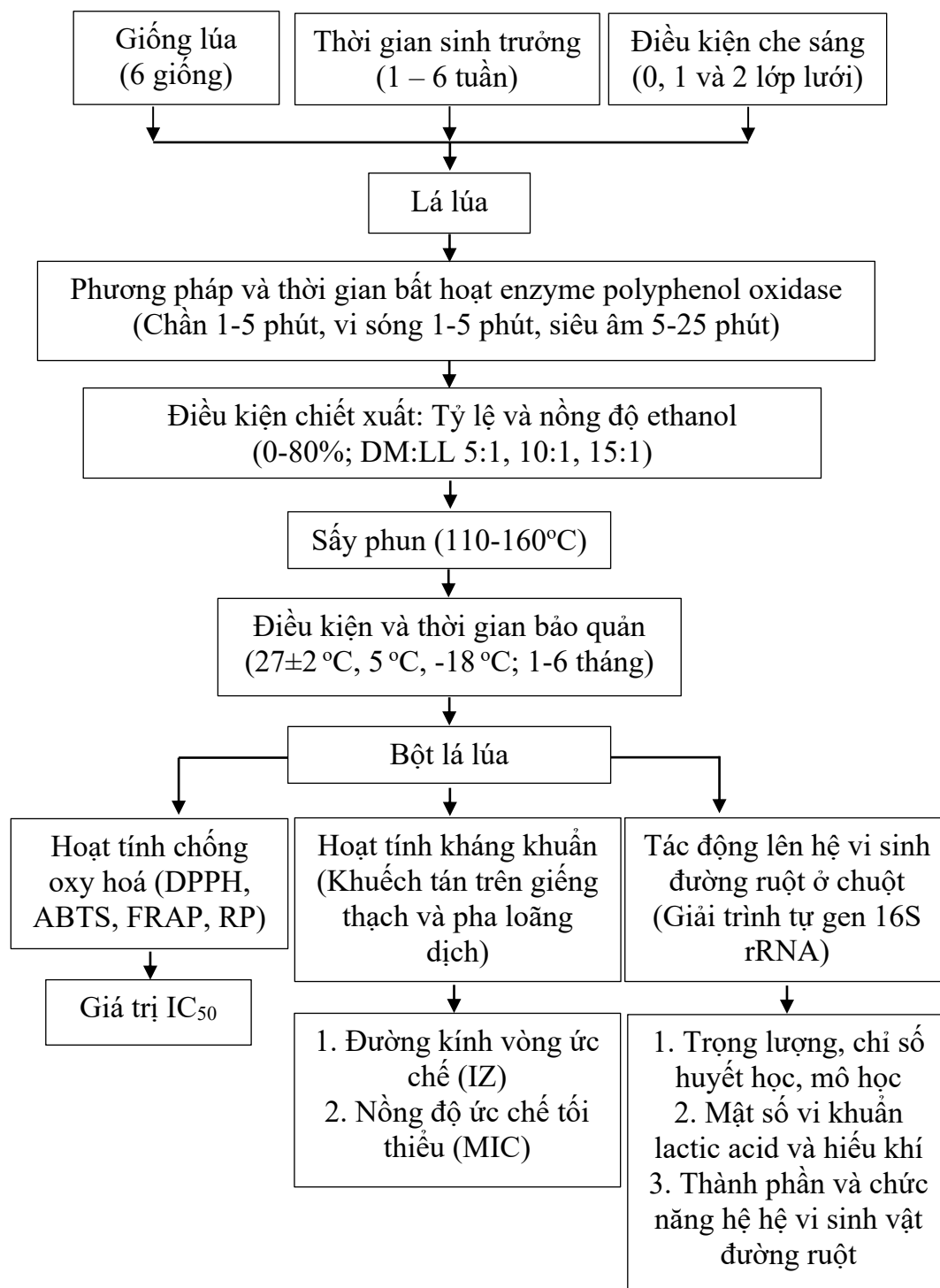
Môi trường vi sinh: peptone, yeast extract (China), agar (Việt Nam).

Thiết bị: Máy đo phổ hấp thụ UV-VIS (Genesys 150, Thermo Scientific, Hoa Kỳ), Hệ thống sắc ký khí khối phổ GC-MS/MS (7890B-7000C, Agilent, Hoa Kỳ), Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (Alliance E2695, Waters, Hoa Kỳ), Máy ly tâm lạnh (Hermle Z326K, Labnet, Hoa Kỳ/Đài Loan), Cân kỹ thuật 4 số và 2 số (Pioneer PX, Ohaus, Hoa Kỳ/Trung Quốc), Máy sấy phun (ADL311SA, Yamato, Nhật Bản), Máy sấy đông khô (ScanVac CoolSafe 110-4, Labogene, Đan Mạch), Máy khuấy từ gia nhiệt, máy vortex (MSH-20D & VX-200, Labnet, Hoa Kỳ/Mexico), Pipetman (Proline Plus, MRC, Israel/Trung Quốc), nồi hấp tiệt trùng (CLG-32L, ALP, Nhật Bản), Tủ sấy (UN55, Memmert, Đức), tủ lạnh 2–8 °C và tủ âm sâu –20 °C (ULUF 450, Arctiko, Đan Mạch), Lò vi sóng điện tử (R-75MT, Sharp, Nhật Bản/Trung Quốc).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Sơ đồ thí nghiệm chung

Quy trình thí nghiệm được tóm tắt trong sơ đồ hình 2.1.



**Hình 2.1. Sơ đồ thí nghiệm chung**

### 2.2.2. Bố trí thí nghiệm

#### 2.2.2.1. *Khảo sát ảnh hưởng của giống lúa, điều kiện sinh trưởng và thời điểm thu hoạch đến hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng hợp chất trong lá lúa non*

*Bố trí thí nghiệm.* Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với ba nhân tố: giống lúa, thời gian sinh trưởng, và điều kiện che sáng. Mỗi tổ hợp thí nghiệm được lặp lại ba lần.

Nhân tố giống lúa: Gồm sáu giống được ký hiệu là IR504 (IR50404), NTH (Nàng Thơm), TNG (Tài Nguyên), HLA (Hương Lài), NTI (Nếp Tím) và HRO (Huyết Rồng).

Nhân tố thời gian sinh trưởng: Bao gồm sáu giai đoạn thu hoạch tương ứng với 1, 2, 3, 4, 5 và 6 tuần sau gieo.

Nhân tố điều kiện ánh sáng: Không che sáng (ngoài trời hoàn toàn), cường độ ánh sáng dao động từ 49.369 - 123.207 Lux. Che sáng bằng một lớp lưới polyetylen màu đen (OOKAS, Đức), giảm 60% cường độ ánh sáng tự nhiên, tương ứng 16.178 - 48.447 Lux. Che sáng bằng hai lớp lưới, giảm 90% cường độ ánh sáng tự nhiên, tương ứng 5.738 - 12.151 Lux.

Thí nghiệm được thực hiện ngoài trời trong khung giờ từ 08:00 đến 16:00, với nhiệt độ trung bình ghi nhận từ 24,5°C (tối thiểu) đến 32,6°C (tối đa).

Ghi chú: Thí nghiệm được bố trí với ba mức cường độ chiếu sáng được thiết kế có chủ đích khoa học nhằm đánh giá phản ứng sinh lý – sinh hóa của cây lúa non dưới các mức ánh sáng khác nhau. Ánh sáng là yếu tố môi trường then chốt chi phối quá trình quang hợp và sinh tổng hợp các hợp chất phenolic, flavonoid và chlorophyll, từ đó ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính sinh học của lá lúa non. Mặc dù điều kiện che sáng không phản ánh mô hình canh tác phổ biến, song đây là phương pháp nghiên cứu sinh lý thực vật được ứng dụng rộng rãi để mô phỏng các trạng thái sinh thái khác nhau như mật độ trồng dày, che bóng tự nhiên hoặc vùng ánh sáng yếu.

*Tiến hành thí nghiệm.* Hạt giống được rửa sạch và ngâm trong nước ấm (40 - 50°C) trong 24 giờ, sau đó ủ ẩm bằng vải thưa trong 48 giờ để kích thích nảy mầm. Đất phù sa bề mặt được thu tại địa điểm thực nghiệm, cho vào khay nhựa (kích thước 65 × 42 × 16 cm, khối lượng 25 kg/khay) và để ổn định 1 ngày trước khi gieo. Hạt được gieo với mật độ 200 hạt/khay (xấp xỉ 500 hạt/m<sup>2</sup>, khoảng cách giữa các hạt 1–2 cm). Các khay được đặt trong điều kiện ánh sáng tương ứng và tưới nước hai lần mỗi ngày.

Chế độ bón phân bao gồm: Đạm (urea) bón sau 7 ngày tuổi với liều lượng 1–2 g pha trong 5 L nước/m<sup>2</sup>; Phân NPK bón bổ sung sau 14 và 28 ngày tuổi với liều lượng 0,5–1 g/m<sup>2</sup>.

*Thu mẫu và xử lý mẫu.* Lá lúa được thu hoạch định kỳ theo tuần, vào buổi sáng, sau đó được nghiền ngay để thu dịch chiết. Một phần mẫu được xử lý và bảo quản ở –20°C để phân tích GC-MS. Việc xử lý, định mức thể tích và bơm mẫu vào thiết bị được thực hiện đồng nhất giữa các nghiệm thức.



**Hình 2.2. Lúa được trồng trong các khay nhựa điều kiện ngoài trời**

*Chỉ tiêu phân tích.* Hàm lượng chlorophyll tổng xác bằng phương pháp đo quang phổ; Hàm lượng polyphenol tổng theo phương pháp Folin–Ciocalteu; Hàm lượng chất xơ tan; Hoạt tính chống oxy hóa thông qua thử nghiệm DPPH; Phân tích GC-MS thực hiện trên các mẫu đại diện tại một số thời điểm sinh trưởng để xác định thành phần hợp chất sinh học đặc trưng.

#### **2.2.2.2. Khảo sát quy trình công nghệ thu nhận BLL**

**Thí nghiệm 2.1.** Ảnh hưởng của phương pháp và thời gian bất hoạt enzyme đến hàm lượng chlorophyll và polyphenol.

*Bố trí thí nghiệm 2.1.* Thí nghiệm được thiết kế theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Nhân tố khảo sát là phương pháp và thời gian bất hoạt enzyme gồm: chần ở 100 °C, xử lý vi sóng (600 W) và xử lý siêu âm. Mỗi phương pháp được khảo sát tại 5 mức thời gian khác nhau: chần và vi sóng (1, 2, 3, 4 và 5 phút), siêu âm (5, 10, 15, 20 và 25 phút) [124]. Đối chứng là mẫu không xử lý bất hoạt enzyme.

*Tiến hành thí nghiệm 2.1.* Lá lúa non từ giống có hoạt tính chống oxy hóa cao được thu hoạch theo điều kiện tối ưu từ thí nghiệm 1. Sau xử lý bất hoạt

enzyme theo các điều kiện nêu trên, mẫu được nghiền và thu dịch chiết để phân tích.

*Chỉ tiêu phân tích.* Hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính enzyme polyphenol oxidase trước và sau xử lý để tính toán tỷ lệ tổn thất và hiệu quả ức chế enzyme.

**Thí nghiệm 2.2.** Ảnh hưởng của tỷ lệ và nồng độ ethanol đến hiệu quả chiết xuất hợp chất chống oxy hóa.

*Bố trí thí nghiệm.* Thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên, hai nhân tố: nồng độ ethanol (0%, 20%, 40%, 60%, 80%) và tỷ lệ dung môi/lá lúa (5:1, 10:1, 15:1), mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần [63].

*Tiến hành thí nghiệm.* Lá lúa non sau khi được xử lý bất hoạt enzyme (theo điều kiện tối ưu từ thí nghiệm 2.1) được nghiền mịn và trích ly bằng ethanol theo các tỷ lệ và nồng độ khảo sát. Dịch chiết được cô quay ở 45 °C để loại dung môi và chuẩn hóa thể tích trước khi tiến hành các phân tích hóa học.

*Chỉ tiêu phân tích.* Hàm lượng chlorophyll và polyphenol tổng.

**Thí nghiệm 2.3.** Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến chất lượng BLL

*Bố trí thí nghiệm.* Thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên với sáu mức nhiệt độ sấy phun (110–160°C) và một nghiệm thức đối chứng bằng sấy đông khô (-85°C). Maltodextrin 10% được sử dụng làm chất mang, mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần [82].

*Tiến hành thí nghiệm.* Dịch lá lúa non sau khi trích ly ethanol (thí nghiệm 2.2) được bổ sung chất mang và đem sấy bằng máy sấy phun với tốc độ dòng 7–8 mL/phút. Đối với đối chứng, mẫu được sấy đông khô đến khi đạt độ ẩm 5%.

*Chỉ tiêu phân tích.* Hàm lượng chlorophyll, polyphenol, flavonoid, xơ tan và khả năng khử gốc tự do (DPPH).

**Thí nghiệm 2.4.** Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản đến chất lượng BLL.

*Bố trí thí nghiệm.* Thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên với hai nhân tố: nhiệt độ bảo quản (nhiệt độ phòng  $27 \pm 2$  °C, 5 °C và -18 °C) và thời gian bảo quản (1–6 tháng), mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần.

Điều kiện nhiệt độ phòng được áp dụng theo khuyến nghị của tiêu chuẩn TCVN ISO/TS 22002-5:2023 về kiểm soát môi trường lưu trữ trong chuỗi sản xuất thực phẩm nhằm đảm bảo tính ổn định của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong suốt thời gian lưu trữ [125]. Nhiệt độ lạnh và đông được lựa chọn tham khảo từ các nghiên cứu trước đây trong bảo quản bột thực vật chứa polyphenol và hợp chất nhạy nhiệt [126].

*Tiến hành thí nghiệm.* Mẫu BLL (~5 g) được phân phối vào ống ly tâm 15 mL làm từ nhựa polypropylen, nắp kín, có bọc giấy nhôm nhằm hạn chế tiếp xúc với ánh sáng và độ ẩm. Mẫu sau đó được bảo quản ở các điều kiện nhiệt độ đã nêu trong thời gian 6 tháng. Nhiệt độ được theo dõi bằng thiết bị ghi nhiệt độ tự động và điều chỉnh về  $\pm 2^\circ\text{C}$ .

*Chỉ tiêu theo dõi.* Hàm lượng chlorophyll, polyphenol, xơ tan và hoạt tính khử gốc tự do DPPH tại các thời điểm bảo quản.

### **2.2.2.3. Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá, kháng khuẩn và tác động của BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột**

**Thí nghiệm 3.1.** Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá của BLL thông qua các thử nghiệm loại bỏ gốc tự do DPPH, ABTS, năng lực khử (Reducing Power – RP) và khả năng khử sắt (Ferric Reducing Antioxidant Power – FRAP).

*Bố trí thí nghiệm 3.1.* Thiết kế theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 mức nồng độ BLL (1–10%, w/v), lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức.

*Tiến hành thí nghiệm 3.1.* BLL được hòa tan trong nước cất để thu được 10 mức nồng độ từ 1–10% (w/v). Hỗn dịch được khuấy kỹ, sau đó lọc qua giấy lọc Whatman số 1 để loại bỏ phần không tan. Tiến hành xác định hàm lượng chlorophyll tổng, polyphenol tổng, xơ tan và hoạt tính chống oxy hóa qua các thử nghiệm chống oxy hóa (DPPH, ABTS, FRAP, RP). Hiệu quả chống oxy hóa được so sánh với vitamin C qua giá trị  $\text{IC}_{50}$ .

*Chỉ tiêu phân tích.* Giá trị  $\text{IC}_{50}$  thông qua các thử nghiệm nêu trên.

**Thí nghiệm 3.2.** Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL thông qua phương pháp khuếch tán trên thạch (đường kính vòng ức chế - IZ) và phương pháp pha loãng dịch (xác định nồng độ ức chế tối thiểu - MIC).

*Bố trí thí nghiệm 3.2.* Thí nghiệm được thiết kế theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm ba lần lặp lại cho mỗi nồng độ của BLL (500, 1000, 2000, 4000 và 8000  $\mu\text{g/mL}$ ), được hòa tan trong dung dịch DMSO 30% (v/v). Ampicillin (100  $\mu\text{g/mL}$ ) và metronidazol (100  $\mu\text{g/mL}$ ) lần lượt được sử dụng làm đối chứng dương cho vi khuẩn và nấm. DMSO 30% được sử dụng làm đối chứng âm.

Chủng vi sinh vật sử dụng gồm *P. aeruginosa* ATCC 6432, *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 8739 và *C. albicans* ATCC 10231. Vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường Luria-Bertani (LB) và nấm trên môi trường Sabouraud dextrose (SD).

*Tiến hành thí nghiệm 3.3.* Các chủng vi khuẩn và nấm men được hoạt hóa bằng cách nuôi cấy trong môi trường lỏng và ủ ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ. Sau khi ủ, tế

bào được thu hồi và pha loãng trong dung dịch NaCl 0,85% vô trùng, sau đó chuẩn hóa mật độ đục tương ứng với chuẩn McFarland 0,5 ( $OD_{600} \approx 0,08-0,10$ ), tương đương khoảng  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL đối với vi khuẩn và  $1-5 \times 10^6$  CFU/mL đối với nấm men *C. albicans*. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL được đánh giá bằng hai phương pháp: khuếch tán trên thạch xác định đường kính vòng ức chế (IZ) và pha loãng dịch trong môi trường lỏng nhằm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC).

*Chỉ tiêu phân tích.* Đường kính vùng ức chế (mm), giá trị MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ).

**Thí nghiệm 3.3.** Khảo sát tác động của tiêu thụ BLL đến hệ vi sinh vật đường ruột trên mô hình chuột.

*Mục tiêu.* Đánh giá ảnh hưởng của việc tiêu thụ BLL đến hệ vi sinh đường ruột chuột thông qua 1) Nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường thạch xác định tổng số vi khuẩn lactic acid (Lactic acid bacteria - LAB) và tổng số vi khuẩn hiếu khí (Aerobic bacteria - AeB) trong mẫu phân; 2) Giải trình tự gen 16S rDNA của hệ vi sinh vật trong mẫu phân; 3) Đánh giá tác động của tiêu thụ BLL lên chỉ số sinh lý chuột (chỉ số huyết học, mô học và trọng lượng chuột)

*Bố trí thí nghiệm 3.3.* Thí nghiệm sử dụng tổng cộng 45 con chuột BALB/c (8 tuần tuổi, khỏe mạnh, không mang mầm bệnh), được chia ngẫu nhiên thành ba nhóm xử lý ( $n = 5$  mỗi nhóm, lặp lại ba lần). Các nhóm bao gồm: nhóm đối chứng âm (PCDC) được cho ăn khẩu phần tiêu chuẩn và uống nước cất; nhóm PC150 được cho ăn khẩu phần tiêu chuẩn và bổ sung BLL với liều 150 mg/kg thể trọng/ngày; và nhóm PC300 được cho ăn khẩu phần tiêu chuẩn và bổ sung BLL với liều 300 mg/kg thể trọng/ngày. Liều lượng BLL được lựa chọn tham khảo từ nghiên cứu của Phimphilai và cs. (2021) [39]. Thời gian xử lý kéo dài trong 14 ngày liên tục.

*Tiến hành thí nghiệm 3.3.* Thí nghiệm được tiến hành tuân thủ theo hướng dẫn của Hội đồng đạo đức Trường Đại học Y Dược Cần Thơ (số 25.002.GV.NT/PCT-HĐĐĐ). Trước khi tiến hành, chuột được nuôi thích nghi trong các lồng nhựa chuyên dụng trong thời gian một tuần. Điều kiện môi trường nuôi chuột được duy trì ổn định với nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , độ ẩm tương đối  $55 \pm 10\%$ , và chu kỳ sáng–tối 12:12 giờ (ánh sáng từ 7:00 đến 19:00) (Hình 2.3). Trong suốt thời gian thí nghiệm, chuột được cung cấp đầy đủ nước uống và thức ăn hỗn hợp dạng viên tiêu chuẩn, không hạn chế về khẩu phần ăn theo hướng dẫn của các nghiên cứu trước đó [127].



**Hình 2.3. Bố trí thí nghiệm chuột tiêu thụ BLL**

Sau thời gian thích nghi một tuần, chuột trong các nhóm xử lý được cho uống BLL bằng phương pháp bơm dạ dày, sử dụng kim đầu tù, với dung dịch đã pha loãng bằng nước cất (Hình 2.4). Nhóm đối chứng được cho uống nước cất theo cách tương tự. Thời điểm cho uống cố định lúc 13:00 giờ mỗi ngày, trong 14 ngày liên tiếp. Liều lượng BLL được hiệu chỉnh theo cân nặng chuột mỗi ngày, tương ứng khoảng 3,3–3,5 mg BLL/chuột/ngày (PC150) và 6,6–6,8 mg BLL/chuột/ngày (PC300).



**Hình 2.4. Chuột cho uống BLL bằng kim đầu tù**

Trọng lượng cơ thể của chuột được đo tại hai thời điểm (ngày 0 và ngày 14 của thí nghiệm) nhằm đánh giá mức tăng trọng (weight gain) của ba nhóm thí nghiệm.

Để xác định mật số vi khuẩn LAB và AeB, mẫu phân được thu thập riêng biệt theo từng lồng nuôi, với ba lần lặp lại cho mỗi nhóm chuột thí nghiệm.



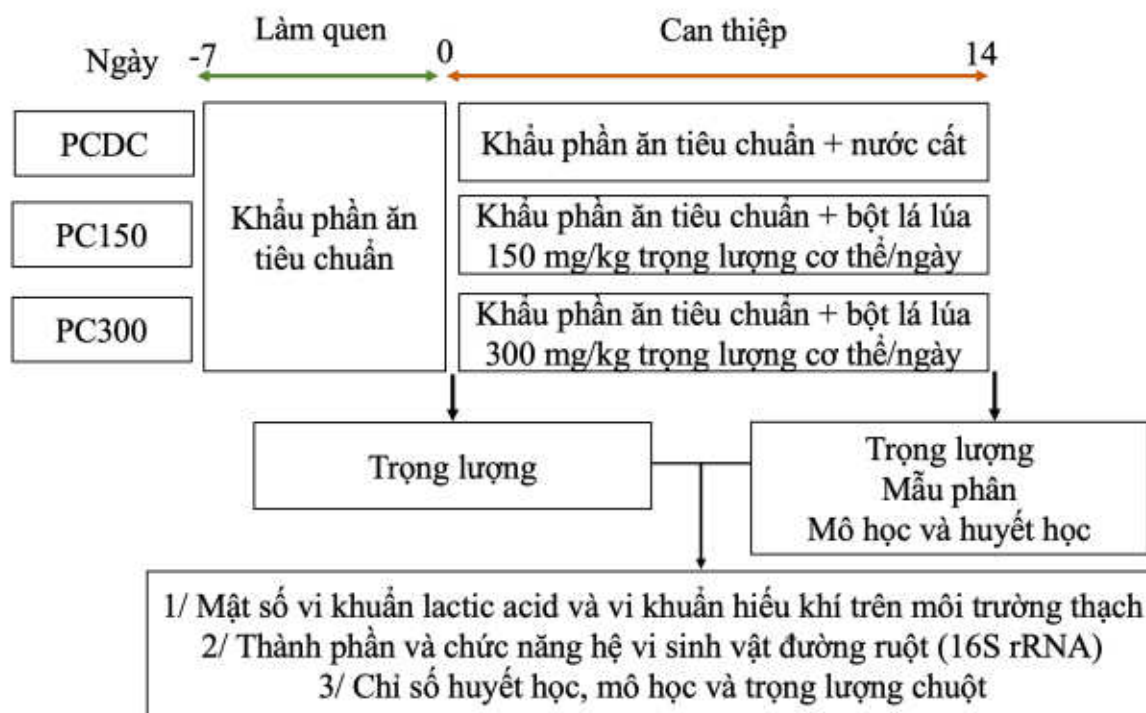
**Hình 2.5. Thu nhận mẫu phân chuột**

Đối với phân tích thành phần hệ vi sinh vật đường ruột bằng kỹ thuật giải trình tự gen 16S rRNA, mẫu phân được thu thập theo phương pháp gộp, tức là thu từ từng cá thể chuột, sau đó gộp theo nhóm ( $n = 15$  chuột/nhóm) để tạo thành một mẫu đại diện cho mỗi nhóm thí nghiệm.

Mẫu phân được thu vào buổi sáng sau 14 ngày thí nghiệm, ngay sau khi bài tiết, bằng cách nhẹ nhàng nâng chuột và thu gom trực tiếp phân tươi vào ống falcon vô trùng (Hình 2.5). Các ống chứa mẫu được dán nhãn đầy đủ và bảo quản ngay ở  $-80^{\circ}\text{C}$  cho đến khi tiến hành phân tích. Riêng phần mẫu dùng cho nuôi cấy vi

sinh vật được xử lý trong vòng 1 giờ sau khi thu để đảm bảo độ sống và số lượng vi khuẩn chính xác. Sau thời gian thí nghiệm, chuột được gây mê bằng diethyl ether để lấy mẫu máu qua phương pháp chọc tim. Mẫu máu sau đó được bảo quản ở  $-80^{\circ}\text{C}$  để phân tích các chỉ số huyết học. Sau khi lấy máu, chuột được kết thúc bằng phương pháp trật đốt sống cổ và thu mẫu ruột non để tiến hành phân tích hình thái mô học.

Sơ đồ thí nghiệm 3.3



Hình 2.6. Sơ đồ thí nghiệm 3.3

## 2.3. Các phương pháp phân tích

### 2.3.1. Ly trích dịch lá lúa

Dịch chiết lá lúa được thu nhận theo phương pháp của Tamprasit và cs. (2019) với một số điều chỉnh [29]. Lá lúa tươi sau khi thu hoạch được rửa sạch, để ráo ở nhiệt độ phòng và cắt thành đoạn nhỏ (0,2–0,5 cm). Mẫu được cân 1 g, nghiền mịn và chiết bằng 10 mL ethanol 80% (v/v). Hỗn hợp chiết được lọc qua giấy lọc Whatman số 4. Dịch lọc sau đó được cô quay chân không ở nhiệt độ dưới  $45^{\circ}\text{C}$  để loại bỏ ethanol và tái định mức về thể tích ban đầu bằng nước cất. Dịch chiết thô được bảo quản ở  $-18^{\circ}\text{C}$  để phục vụ các phân tích tiếp theo.

### 2.3.2. Phân tích hàm lượng chlorophyll tổng

Hàm lượng chlorophyll được xác định theo phương pháp của Rajalakshmi và Banu (2015) với một số điều chỉnh [128]. Một gram lá lúa tươi được cắt nhỏ, nghiền với 40 mL ethanol 80% (v/v), sau đó ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 5

phút. Phần dịch nổi (supernatant) chứa chlorophyll được thu lại, trong khi phần cặn được tiếp tục trích ly bằng ethanol mới. Quá trình trích ly và ly tâm được lặp lại nhiều lần cho đến khi phần cặn không còn màu xanh. Các dịch chiết được gộp chung, sử dụng để đo độ hấp thụ ánh sáng bằng phổ UV-Vis.

Dung dịch chiết được đo độ hấp thụ tại hai bước sóng đặc trưng là 645 nm ( $A_{645}$ ) và 663 nm ( $A_{663}$ ), với mẫu trắng là ethanol tuyệt đối. Độ hấp thụ tại các bước sóng này phản ánh hàm lượng các sắc tố chlorophyll có trong mẫu. Hàm lượng chlorophyll tổng số, chlorophyll a và chlorophyll b được tính toán theo các công thức sau:

$$+ \text{Chlorophyll tổng } (\mu\text{g/mL}) = 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}$$

$$+ \text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/mL}) = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$+ \text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/mL}) = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

### 2.3.3. Phân tích hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết lá lúa được xác định theo phương pháp Folin–Ciocalteu có điều chỉnh, dựa trên mô tả của Tamprasit và cs. (2019) [29]. Một gram lá lúa tươi được cắt nhỏ, nghiền trong cối sứ và chiết bằng 10 mL ethanol 80% (v/v). Dịch chiết được ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 5 phút và phần dịch nổi được thu để phân tích.

Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 mL dịch chiết, 2,5 mL thuốc thử Folin–Ciocalteu (pha loãng 10 lần) và được ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, thêm 2 mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 M và định mức thể tích lên 10 mL bằng nước cất. Hỗn hợp được lắc đều và ủ trong điều kiện tối ở nhiệt độ phòng trong 90 phút. Độ hấp thụ quang được đo tại bước sóng 750 nm bằng máy quang phổ UV-VIS ( $\lambda_{\text{max}} = 750 \text{ nm}$ ). Hàm lượng polyphenol tổng được biểu thị dưới dạng mg tương đương gallic acid (GAE)/g lá tươi.

Công thức tính:  $P = (a \times k \times V) / (1000 \times m)$ . Trong đó: P: Hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g mẫu tươi); a: Nồng độ polyphenol tương đương gallic acid của mẫu, xác định từ đường chuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ ); V: thể tích toàn bộ dịch chiết (mL); m: Khối lượng mẫu lá lúa tươi (g); k: Hệ số pha loãng (nếu có).

#### *Xây dựng đường chuẩn gallic acid*

Dung dịch chuẩn gallic acid 1000 ppm được pha bằng cách hòa tan 0,1 g gallic acid vào ethanol và định mức lên 100 mL. Sau đó, pha loãng thành các nồng độ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 và 100  $\mu\text{g/mL}$ .

Mỗi 0,5 mL dung dịch gallic acid được trộn với 5 mL thuốc thử Folin–Ciocalteu 10%, sau 5 phút thêm 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 M và định mức lên 10 mL. Hỗn

hợp được giữ trong điều kiện tối trong 90 phút, sau đó đo độ hấp thụ tại bước sóng 750 nm. Đường chuẩn được xây dựng từ dữ liệu độ hấp thụ và nồng độ gallic acid để phục vụ việc tính toán polyphenol tổng trong mẫu nghiên cứu.

#### 2.3.4. Xác định tỷ lệ tổn thất chlorophyll và polyphenol

Tỷ lệ tổn thất chlorophyll và polyphenol được xác định dựa trên sự thay đổi hàm lượng của các hợp chất này trước và sau khi xử lý bất hoạt enzyme (chần, vi sóng, siêu âm). Hàm lượng chlorophyll và polyphenol được xác định theo phương pháp đã mô tả tại Mục 2.3.2 và 2.3.3.

Giá trị tổn thất (%) được tính theo công thức: Tỷ lệ tổn thất (%) =  $100 - [(C_{\text{sau}}/C_{\text{trước}}) \times 100]$ . Trong đó:  $C_{\text{trước}}$ : Hàm lượng hợp chất (chlorophyll hoặc polyphenol) trong mẫu lá trước xử lý bất hoạt enzyme ( $\mu\text{g/mL}$  hoặc  $\text{mg GAE/g}$ );  $C_{\text{sau}}$ : Hàm lượng hợp chất (chlorophyll hoặc polyphenol) trong mẫu lá sau khi xử lý bất hoạt enzyme ( $\mu\text{g/mL}$  hoặc  $\text{mg GAE/g}$ ).

Kết quả được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ phần trăm (%) tổn thất, phản ánh mức độ biến đổi hoặc hao hụt của hợp chất do tác động của từng phương pháp và thời gian xử lý.

#### 2.3.5. Phân tích hàm lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng trong dịch chiết lá lúa được xác định theo phương pháp của Sen và cs. (2013) với một số điều chỉnh phù hợp [129]. Một mililit dịch chiết được cho vào ống eppendorf, sau đó thêm 1.000  $\mu\text{L}$  nước cất và 200  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{NaNO}_2$  5%. Hỗn hợp được để phản ứng trong 5 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp tục thêm 200  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{AlCl}_3$  10% và ủ tiếp 6 phút. Sau đó, bổ sung 2.000  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{NaOH}$  1 M và 600  $\mu\text{L}$  nước cất để đạt tổng thể tích 5 mL. Dung dịch thu được được trộn đều và đo độ hấp thụ ở bước sóng 510 nm bằng máy quang phổ UV-VIS. Hàm lượng flavonoid tổng được tính toán dựa trên đường chuẩn với quercetin trong khoảng nồng độ 10–100  $\mu\text{g/mL}$ , kết quả được biểu thị dưới dạng miligam tương đương quercetin (QE)/g mẫu tươi.

Công thức tính:  $F = (c \times k \times V)/(1000 \times m)$ . Trong đó: F: Hàm lượng flavonoid tổng (mg QE/g mẫu); c: Nồng độ quercetin tương ứng trên đường chuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ ); V: Thể tích dịch chiết (mL); m: Khối lượng mẫu tươi (g); k: Hệ số pha loãng (nếu có).

##### ➤ Xây dựng đường chuẩn quercetin:

Dung dịch chuẩn quercetin 1.000 ppm ( $\mu\text{g/mL}$ ) được chuẩn bị bằng cách hòa tan 0,1 g quercetin vào ethanol và định mức lên 100 mL. Sau đó, pha loãng để thu được các nồng độ từ 0 đến 100  $\mu\text{g/mL}$ . Mỗi ống chuẩn được xử lý giống như mẫu

thử theo các bước phản ứng đã mô tả ở trên. Độ hấp thụ được đo tại 510 nm và giá trị thu được được sử dụng để xây dựng đường chuẩn quercetin, từ đó tính toán hàm lượng flavonoid tổng của mẫu nghiên cứu.

### 2.3.6. Phân tích hàm lượng xơ tan

Hàm lượng xơ tan trong mẫu chiết được xác định dựa trên phương pháp kết tủa ethanol lạnh với một số hiệu chỉnh [130]. Dịch chiết lá lúa sau khi ly tâm loại bỏ cặn thô được trộn với ethanol tuyệt đối lạnh (96%, tỷ lệ 1:4, v/v), sau đó ủ ở 4°C trong 24 giờ để kết tủa phần xơ tan. Kết tủa thu được bằng cách ly tâm ở 8.400 vòng/phút trong 30 phút. Phần kết tủa được thu gom, rửa nhẹ bằng ethanol 80%, rồi đem sấy ở 55°C trong tủ sấy chân không đến khi khối lượng không đổi. Khối lượng phần xơ tan khô được cân và dùng để tính hàm lượng xơ tan theo công thức:

Hàm lượng xơ tan (mg/g mẫu tươi) =  $(m_1 / m_0) \times 1000$ . Trong đó:  $m_1$ : khối lượng phần xơ tan khô (g);  $m_0$ : khối lượng mẫu tươi ban đầu (g).

### 2.3.7. Xác định hoạt tính enzyme polyphenol oxidase

Hoạt tính của enzyme PPO được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV-Vis dựa trên phản ứng oxy hóa pyrocatechol thành benzoquinone, theo phương pháp của Tram và cs. (2015), với một số điều chỉnh [131].

Chuẩn bị dịch chiết enzyme: 10 g lá lúa tươi được cắt nhỏ và nghiền trong cối sứ lạnh cùng 50 mL dung dịch đệm phosphate 0,1 M (pH 7,5) có bổ sung 1% (w/v) polyethylene glycol (PEG). Hỗn hợp được khuấy liên tục trong 30 phút ở 4°C trong tối nhằm hạn chế quá trình oxy hóa không enzym và hỗ trợ chiết enzyme. Dịch nghiền được lọc qua lớp vải mịn, sau đó ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Phần dịch nổi thu được là dịch chiết enzyme thô, được bảo quản trên đá lạnh cho đến khi sử dụng.

Xác định hoạt tính PPO: Hoạt tính enzyme được đo dựa trên phản ứng oxy hóa pyrocatechol (không màu) thành benzoquinone (màu vàng nâu), có cực đại hấp thụ tại 420 nm. Hệ phản ứng gồm 0,1 mL dịch chiết enzyme, 0,9 mL đệm phosphate 0,1 M (pH 8,0) và 2,0 mL dung dịch pyrocatechol 0,05 M. Phản ứng được thực hiện trong cuvet thạch có chiều dài quang học 1 cm ở nhiệt độ phòng ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Phản ứng bắt đầu khi pyrocatechol được thêm vào hỗn hợp và độ hấp thụ quang học (A) được theo dõi tại 420 nm bằng máy quang phổ UV-Vis.

Hoạt độ enzyme được tính toán theo định luật Lambert-Beer:  $A = \varepsilon \times C \times l$

Trong đó: A: độ hấp thụ quang học đo được tại 420 nm;  $\varepsilon$ : hệ số hấp thụ mol của benzoquinone tại 420 nm là  $24.300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ; C: nồng độ benzoquinone tạo thành (mol/L); l: chiều dài cuvet (1 cm).

Đơn vị hoạt tính enzyme (IU) được tính là lượng enzyme xúc tác tạo ra 1  $\mu\text{mol}$  benzoquinone/phút, theo công thức:  $\text{IU} = (\text{C} \times 0,1 \text{ mL}) / (3 \text{ mL} \times 10^{-6})$

Trong đó: C: nồng độ benzoquinone (mol/L); 0,1 mL: thể tích dịch chiết enzyme sử dụng trong phản ứng; 3 mL: tổng thể tích hỗn hợp phản ứng;  $10^{-6}$ : hệ số quy đổi từ mol sang  $\mu\text{mol}$ .

### 2.3.8. Phân tích khả năng khử gốc tự do DPPH

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết lá lúa được xác định theo phương pháp của Thepthanee và cs. (2021) với một số điều chỉnh [8]. Cụ thể, 1,5 mL dung dịch DPPH 0,15 mM pha trong ethanol 95% được thêm vào 1,5 mL dịch chiết lá lúa ở các nồng độ khác nhau. Hỗn hợp được trộn đều và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ được đo tại bước sóng 517 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Mức độ khử gốc tự do DPPH được đánh giá dựa trên phần trăm ức chế và giá trị  $\text{IC}_{50}$ .

Phần trăm ức chế được tính theo công thức:  $\% \text{ức chế DPPH}^+ = [(A_{\text{Chứng}} - A_{\text{Mẫu}}) / A_{\text{Chứng}}] \times 100$ . Trong đó:  $A_{\text{Chứng}}$ : độ hấp thụ của dung dịch chứa DPPH và ethanol (không có mẫu);  $A_{\text{Mẫu}}$ : độ hấp thụ của hỗn hợp chứa dịch chiết và DPPH.

Giá trị  $\text{IC}_{50}$  (nồng độ dịch chiết cần thiết để khử 50% gốc DPPH•) được xác định bằng phương pháp nội suy từ đồ thị phần trăm ức chế theo nồng độ dịch chiết.

*Xây dựng đường chuẩn Trolox*: Dung dịch Trolox chuẩn 1000  $\mu\text{M}$  được pha loãng để tạo thành các nồng độ: 0, 10, 20, 30, 40, 50 và 60  $\mu\text{M}$ . Mỗi nồng độ Trolox (1,5 mL) được phản ứng với 1,5 mL dung dịch DPPH 0,15 mM. Sau 30 phút ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng, đo độ hấp thụ tại 517 nm. Từ đó, xây dựng đường chuẩn và biểu thị kết quả hoạt tính DPPH của dịch chiết theo đơn vị  $\mu\text{mol}$  Trolox tương đương trên gam nguyên liệu tươi ( $\mu\text{mol TE/g}$ ).

*Chuẩn bị dung dịch DPPH*: Dung dịch DPPH 0,15 mM được pha bằng cách hòa tan 0,0059 g DPPH trong 100 mL ethanol 96%.

*Đối chứng Vitamin C*: Vitamin C được pha ở nồng độ gốc 1.000  $\mu\text{g/mL}$  trong ethanol và tiếp tục pha loãng để tạo các nồng độ trong khoảng 0–100  $\mu\text{g/mL}$ . Các dung dịch chuẩn này sử dụng để xây dựng đường chuẩn riêng cho các phép đo DPPH, ABTS, FRAP hoặc RP.

### 2.3.9. Phân tích khả năng khử gốc tự do ABTS

Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS được xác định theo phương pháp của Thepthanee và cs. (2022) với một số điều chỉnh [25]. Mẫu thử gồm 20  $\mu\text{L}$  dịch chiết lá lúa ở các nồng độ khác nhau được trộn với 180  $\mu\text{L}$  dung dịch ABTS đã

chuẩn hóa. Hỗn hợp được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 6 phút, sau đó đo độ hấp thụ tại bước sóng 734 nm bằng máy quang phổ UV-VIS.

Khả năng bắt trung hoà gốc tự do ABTS được tính toán: % trung hoà  $ABTS^+ = [(A_{\text{Chứng}} - A_{\text{Mẫu}}) / A_{\text{Chứng}}] \times 100 \%$ . Trong đó:  $A_{\text{Chứng}}$ : độ hấp thụ của mẫu trắng (không có dịch chiết);  $A_{\text{Mẫu}}$ : độ hấp thụ của mẫu có dịch chiết. Giá trị  $IC_{50}$  (nồng độ dịch chiết ức chế 50% ABTS) được xác định thông qua đường cong hồi quy phi tuyến giữa nồng độ mẫu và % ức chế. Ascorbic acid được sử dụng làm đối chứng chuẩn để so sánh hoạt tính chống oxy hóa.

*Chuẩn bị dung dịch  $ABTS^{\bullet+}$* : trộn 7 mM ABTS với 2.45 mM potassium persulfate ( $K_2S_2O_8$ ) theo tỷ lệ thể tích 1:1. Hỗn hợp được để phản ứng trong tối ở 25°C trong 12–16 giờ, cho phép hình thành ổn định gốc  $ABTS^{\bullet+}$ . Sau đó, dung dịch  $ABTS^{\bullet+}$  được pha loãng bằng ethanol hoặc nước cất đến khi có độ hấp thụ tại 734 nm đạt  $1.00 \pm 0.02$ . Dung dịch  $ABTS^{\bullet+}$  sau khi chuẩn hóa có thể ổn định trong tối ở 4°C trong vòng 48 giờ.

### 2.3.10. Phân tích năng lực khử (RP)

Khả năng khử (Reducing power - RP) được thực hiện theo phương pháp của Sobuj và cs. (2021), với một số điều chỉnh [132]. Quy trình tiến hành như sau: 500  $\mu$ L dịch chiết ở các nồng độ khác nhau được trộn với 500  $\mu$ L dung dịch đệm phosphate (0,2 M, pH 6,6) và 500  $\mu$ L dung dịch potassium ferricyanide [ $K_3Fe(CN)_6$ ] 1% (w/v). Hỗn hợp được ủ trong điều kiện tối ở 50°C trong 20 phút để xảy ra phản ứng khử  $Fe^{3+}$  thành  $Fe^{2+}$ . Sau đó, thêm 500  $\mu$ L dung dịch trichloroacetic acid 10% (w/v) để dừng phản ứng, ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 10 phút. Tiếp theo, 500  $\mu$ L lớp dịch phía trên được thu lấy, trộn với 500  $\mu$ L nước cất và 100  $\mu$ L dung dịch  $FeCl_3$  0,1% (w/v). Phản ứng giữa  $Fe^{2+}$  và  $FeCl_3$  tạo thành phức chất màu xanh lam, có khả năng hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 700 nm. Độ hấp thụ ( $A_{700}$ ) được đo bằng máy quang phổ UV-VIS, phản ánh mức độ chuyển hóa  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$  và do đó thể hiện khả năng khử sắt của mẫu. Hoạt tính khử sắt được biểu thị bằng giá trị  $IC_{50}$  (Reducing Power  $IC_{50}$ ): là nồng độ dịch chiết cần thiết để đạt độ hấp thụ 0,5 tại 700 nm, xác định bằng phương pháp nội suy tuyến tính từ đường cong nồng độ –  $A_{700}$ . Vitamin C được sử dụng làm chất chuẩn dương để so sánh hiệu quả khử giữa các mẫu.

### 2.3.11. Phân tích khả năng khử sắt (FRAP)

Khả năng khử sắt (Ferric Reducing Antioxidant Power - FRAP) của dịch chiết lá lúa được xác định theo phương pháp của Chomchan và cs. (2016), với một số điều chỉnh [6]. Quy trình thực hiện: Trộn 1000  $\mu$ L dung dịch thuốc thử FRAP

với 50  $\mu\text{L}$  dịch chiết lá lúa, lắc đều và ủ ở  $37^\circ\text{C}$  trong bóng tối trong 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ của hỗn hợp tại bước sóng 593 nm bằng máy quang phổ UV-VIS. Hoạt tính FRAP được biểu thị qua giá trị  $\text{IC}_{50}$ , là nồng độ dịch chiết cần thiết để đạt độ hấp thụ 0,5 tại bước sóng 593 nm. Giá trị này được xác định bằng nội suy tuyến tính từ đường cong quan hệ giữa nồng độ dịch chiết và độ hấp thụ quang học.

**Chuẩn bị thuốc thử FRAP:** Thuốc thử FRAP được pha tươi ngay trước khi sử dụng bằng cách trộn theo tỷ lệ thể tích 10:1:1 gồm: 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ trong 40 mM HCl và 20 mM  $\text{FeCl}_3$ . Các thành phần được chuẩn bị như sau: Acetate buffer (300 mM, pH 3.6): Hòa tan 24.6 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$  trong khoảng 800 mL nước cất, điều chỉnh pH bằng  $\text{CH}_3\text{COOH}$  99.5% (~30 mL), định mức lên 1 L. Bảo quản ở  $4^\circ\text{C}$ . Dung dịch HCl 40 mM: Pha 3.38 mL HCl đậm đặc (37%) vào nước cất và định mức 1 L. TPTZ 10 mM: Hòa tan 0.0312 g TPTZ trong 10 mL HCl 40 mM, đun nhẹ ở  $50^\circ\text{C}$  nếu cần thiết.  $\text{FeCl}_3$  20 mM: Hòa tan 0.0324 g  $\text{FeCl}_3$  trong 10 mL nước cất.

### 2.3.12. Phân tích thành phần hợp chất bằng GC-MS/MS

Phân tích thành phần hóa học của dịch chiết lá lúa được thực hiện bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS/MS), với một số điều chỉnh dựa theo quy trình mô tả bởi Salleh và Khamis (2021) [133]. Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ 7890B-7000C (Agilent, Hoa Kỳ) được sử dụng kết hợp với cột mao quản Agilent 122-5532G ( $40\text{ m} \times 250\text{ }\mu\text{m} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$ ), sử dụng khí helium làm khí mang với tốc độ dòng 1,2 mL/phút. Mẫu (1  $\mu\text{L}$ ) được tiêm vào buồng tiêm ở nhiệt độ  $280^\circ\text{C}$  theo chế độ chia dòng (split mode) với tỷ lệ chia 25:1, lưu lượng dòng chia là 30 mL/phút và lưu lượng dòng thanh lọc (purge flow) duy trì ở mức 3 mL/phút. Áp suất hệ thống được thiết lập ở 15 psi, tốc độ di chuyển trung bình của khí mang là 34,908 cm/giây. Chương trình nhiệt độ lò cột được thiết lập như sau: bắt đầu từ  $70^\circ\text{C}$ , tăng  $25^\circ\text{C}/\text{phút}$  đến  $150^\circ\text{C}$ ; tiếp tục tăng  $10^\circ\text{C}/\text{phút}$  đến  $200^\circ\text{C}$ ; sau đó tăng  $15^\circ\text{C}/\text{phút}$  đến  $280^\circ\text{C}$  và giữ trong 5 phút. Tổng thời gian phân tích là 54 phút. Phổ khối được ghi nhận ở chế độ ion hóa bằng điện tử (EI) với năng lượng ion hóa 70 eV. Các hợp chất được định danh thông qua việc so sánh phổ thu được với cơ sở dữ liệu phổ trong thư viện NIST-MS 05 và Wiley GC-MS 2007.

### 2.3.13. Phân tích thành phần hợp chất bằng HPLC

Định lượng các hợp chất polyphenol nhóm catechin trong BLL được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Zielinski và cs. (2015), với một số điều chỉnh [134]. BLL được hòa tan trong methanol 80% theo tỷ lệ thích hợp (100 mg/10

mL), siêu âm 20 phút và ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 10 phút. Dịch chiết thu được được lọc qua màng lọc syringe nylon 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore, Brazil) trước khi phân tích. Một thể tích 20  $\mu\text{L}$  mẫu được tiêm vào hệ thống HPLC Alliance E2695 (Waters, Hoa Kỳ), được kết nối với đầu dò diode array detector (DAD) PDA 2998 (Waters, Hoa Kỳ), có tích hợp bơm bậc bốn và bộ lấy mẫu tự động, tốc độ dòng: 1,0 mL/phút. Phân tách sắc ký được thực hiện trên cột InertSustain C18 (4,6 mm  $\times$  150 mm, kích thước hạt 5  $\mu\text{m}$ ; Waters, Hoa Kỳ) ở nhiệt độ cột duy trì ở 30°C. Pha động bao gồm dung môi A (phosphoric acid 0,1%, v/v) và dung môi B (methanol), với chương trình gradient như sau: 1–10% B (0–2 phút), 10–50% B (2–30 phút), 50–80% B (30–35 phút), sau đó tiến hành rửa và tái cân bằng cột. Tốc độ dòng được duy trì ở 1,0 mL/phút. Tổng thời gian phân tích là 40 phút. Bước sóng phát hiện: 280 nm, phù hợp để phát hiện các hợp chất nhóm catechin. Phổ UV được ghi nhận trong khoảng 200–400 nm để hỗ trợ định danh. Việc nhận diện các hợp chất được thực hiện bằng cách so sánh thời gian lưu (Rt) và phổ hấp thụ UV với các chuẩn gốc: catechin, EGCG và ECG. Đường chuẩn được xây dựng từ dung dịch chuẩn có nồng độ 1–100  $\mu\text{g/mL}$ . Định lượng được thực hiện bằng phương pháp ngoại chuẩn, với đường hồi quy tuyến tính và các chỉ số: thời gian lưu, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), hệ số tương quan ( $R^2$ ) được tính cho từng hợp chất.

#### **2.3.14. Phương pháp khuếch tán trên giếng thạch**

Phương pháp khuếch tán giếng thạch được thực hiện theo Syeda và Riazunnisa (2020) với một số điều chỉnh [135]. Mỗi đĩa thạch được chuẩn bị bằng cách trải đều 100  $\mu\text{L}$  huyền dịch vi sinh vật (vi khuẩn hoặc nấm) lên bề mặt môi trường thạch thích hợp: môi trường LB đối với vi khuẩn và môi trường Sabouraud dextrose (SD) đối với nấm. Sau khi để khô ở điều kiện vô trùng trong 15 phút, tiến hành đục các giếng thạch có đường kính 6 mm trên bề mặt đĩa. Sau đó, nhỏ 50  $\mu\text{L}$  dịch BLL đã pha loãng ở các nồng độ khác nhau (hoặc dung dịch đối chứng) vào từng giếng. Đĩa được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với ba lần lặp lại. Hoạt tính kháng khuẩn hoặc kháng nấm được đánh giá thông qua sự xuất hiện của vòng ức chế (IZ) xung quanh giếng. Đường kính vòng ức chế (mm) được xác định theo công thức: Đường kính vòng ức chế (mm) = Đường kính toàn bộ vòng vô khuẩn – Đường kính giếng thạch. Việc đo đường kính được thực hiện bằng thước đo thang chính xác.

### 2.3.15. Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration - MIC) của BLL được xác định bằng phương pháp pha loãng dịch trong môi trường lỏng, dựa theo Berkow và cs. (2020) với một số điều chỉnh [136]. BLL được pha loãng trong DMSO 30% để tạo dãy nồng độ: 500, 1000, 2000, 4000 và 8000  $\mu\text{g/mL}$ . Huyền phù vi sinh vật được chuẩn hóa theo chuẩn McFarland 0,5 ( $\text{OD}_{600} \approx 0,08\text{--}0,10$ ), tương ứng với mật số  $1\text{--}1,5 \times 10^8$  CFU/mL đối với vi khuẩn và  $1\text{--}5 \times 10^6$  CFU/mL đối với nấm men. Mỗi ống thử chứa tổng thể tích 10 mL, bao gồm 8 mL môi trường nuôi cấy (LB cho vi khuẩn, SD cho nấm), 1 mL dịch huyền phù vi sinh vật và 1 mL dung dịch BLL ở các nồng độ tương ứng. Các ống đối chứng được bố trí như sau: (a) ống chỉ chứa môi trường (không có BLL và vi sinh vật); (b) ống chứa môi trường và vi sinh vật (không có BLL); (c) ống chứa môi trường và BLL (không có vi sinh vật). Ampicillin (100  $\mu\text{g/mL}$ ) và metronidazole (100  $\mu\text{g/mL}$ ) được sử dụng tương ứng làm đối chứng dương cho vi khuẩn và nấm. Tất cả các ống được ủ ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, độ đục của mẫu được đo bằng máy quang phổ UV-VIS tại bước sóng 600 nm đối với vi khuẩn và 530 nm đối với nấm. Tỷ lệ phần trăm ức chế sinh trưởng được tính theo công thức:  $\% \text{ ức chế} = [(\text{OD}_{\text{VK}+\text{MTr}+\text{BLL}} - \text{OD}_{\text{MTr}+\text{BLL}}) / (\text{OD}_{\text{VK}+\text{MTr}} - \text{OD}_{\text{MTr}})] \times 100$ . Trong đó, VK = vi khuẩn, MTr = môi trường, BLL = Bột lá lúa. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được ghi nhận là nồng độ BLL thấp nhất có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật, thể hiện qua việc không có sự tăng OD so với đối chứng âm. Mỗi nghiệm thức được lặp lại ba lần.

### 2.3.16. Phương pháp xác định mật số vi khuẩn LAB và AeB

Mật số vi khuẩn LAB được xác định bằng cách nuôi cấy trên môi trường thạch MRS có bổ sung  $\text{CaCO}_3$  1% (w/v), trong khi vi khuẩn AeB được nuôi cấy trên môi trường thạch Luria-Bertani (LB). Quy trình thực nghiệm được tham khảo và điều chỉnh từ Berendika và cs. (2022) và Pradini và cs. (2024) [137,138].

Chuẩn bị mẫu: Khoảng 30 mg mẫu phân chuột được cân và cho vào 1 mL dung dịch NaCl 0,85% (w/v), sau đó lắc vortex trong 30 giây để phân tán đều. Dịch phân thu được được pha loãng tuần tự bằng dung dịch NaCl 0,85% để tạo dãy nồng độ pha loãng từ  $10^{-5}$  đến  $10^{-7}$ .

Nuôi cấy và ủ mẫu: Từ mỗi mức pha loãng, lấy 100  $\mu\text{L}$  dịch mẫu trải đều lên bề mặt đĩa thạch: MRS + 1%  $\text{CaCO}_3$  agar cho vi khuẩn LAB; LB agar cho vi khuẩn AeB. Tất cả các đĩa được ủ trong điều kiện hiếu khí ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, các khuẩn lạc được đếm bằng mắt thường.

Công thức tính mật độ vi sinh vật:  $A = N/(n_1Vf_1 + \dots + n_iVf_i)$ . Trong đó: A: Mật độ vi khuẩn (CFU/mL); N: Tổng số khuẩn lạc đếm được trên các đĩa đã chọn; V: Thể tích mẫu;  $n_i$ : Số lượng đĩa ở mức pha loãng thứ i;  $f_i$ : Hệ số pha loãng tương ứng của đĩa i.

Biểu diễn và xử lý kết quả: Kết quả được biểu diễn dưới dạng logarit cơ số 10 của số đơn vị hình thành khuẩn lạc trên mỗi mL dịch nuôi cấy ( $\log_{10}$  CFU/mL). Mỗi mẫu được thực hiện song song ba đĩa và lặp lại ba lần ( $n = 3$ ).

Lưu ý: Môi trường LB là môi trường không chọn lọc, cho phép phát triển các nhóm vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí tùy nghi và kỵ khí không bắt buộc; do đó, kết quả AeB phản ánh tổng mật số vi sinh vật có khả năng phát triển trong điều kiện hiếu khí.

### 2.3.17. Môi trường sử dụng nuôi cấy vi sinh vật

Hai loại môi trường được sử dụng trong nghiên cứu gồm MRS agar bổ sung  $\text{CaCO}_3$  1% (w/v) cho vi khuẩn LAB và LB agar cho tổng số vi khuẩn AeB nuôi cấy được trong điều kiện hiếu khí [137]. Ngoài ra, môi trường LB cũng được dùng để tăng sinh khối các chủng *E. coli*, *P. aeruginosa* và *S. aureus*. Đối với nấm *C. albicans* sử dụng môi trường Sabouraud dextrose (SD) dựa trên công thức của Lodovico và cs. (2023) [139].

Thành phần môi trường MRS +  $\text{CaCO}_3$  (1%) gồm: peptone (20 g), yeast extract (5 g), natri clorua ( $\text{NaCl}$ , 10 g), dextrose (20 g), sodium acetate (5 g), ammonium citrate (2 g), disodium phosphate (2 g), Tween 80 (1 g), magnesium sulphate (0,10 g), manganese sulphate (0,05 g) và calcium carbonate (5 g), 15–20 g agar/L, pha trong 1000 mL nước cất, pH  $7,0 \pm 0,2$ . Môi trường được khử trùng bằng nồi hấp nhiệt ướt ở  $121^\circ\text{C}$ , áp suất 1 atm trong 20 phút. Sau khi đổ đĩa, môi trường có màu trắng đục. Sự hình thành vòng tan  $\text{CaCO}_3$  xung quanh khuẩn lạc được sử dụng làm chỉ thị nhận biết các chủng LAB sinh acid.

Môi trường Luria-Bertani (LB) gồm: peptone (10 g), yeast extract (5 g) và  $\text{NaCl}$  (10 g), 15–20 g agar/L, pha trong 1000 mL nước cất, với pH được điều chỉnh  $7,5 \pm 0,2$ . Sau đó, khử trùng hỗn hợp môi trường ở  $121^\circ\text{C}$ , áp suất 1 atm trong 20 phút.

Môi trường SD gồm: dextrose (40 g) và peptone (10 g) trong 1000 mL nước cất, pH được điều chỉnh  $5,6-6,0 \pm 0,2$ . Môi trường được khử trùng ở  $121^\circ\text{C}$  trong 20 phút, và khi cần nuôi cấy trên môi trường rắn, agar được bổ sung ở nồng độ 15–20 g/L.

### 2.3.18. Xét nghiệm huyết học

Mẫu máu toàn phần (1 mL) được thu thập bằng phương pháp chọc tim (sau gây mê). Sau khi cố định chuột ở tư thế ngửa, kim tiêm vô trùng được đưa qua khoang liên sườn thứ tư – năm, hướng về phía mỏm tim để hút máu trực tiếp từ buồng tim. Lượng máu thu được được chuyển ngay vào ống nghiệm có chứa chất chống đông EDTA và nhẹ nhàng đảo trộn để tránh hiện tượng đông máu.

Mẫu máu sau đó được phân tích ngay để đánh giá các chỉ số huyết học, bao gồm số lượng hồng cầu (RBC), bạch cầu (WBC), tiểu cầu (PLT), nồng độ hemoglobin (Hb), hematocrit (HCT), thể tích trung bình hồng cầu (MCV), nồng độ hemoglobin trung bình (MCH), phân bố kích thước tế bào (RDW) và các chỉ số huyết học liên quan, bằng máy phân tích huyết học tự động 3 thành phần (YR05123, Kalstein, Pháp).

### 2.3.19. Phân tích hình thái mô học ruột non

Quy trình nhuộm mô được thực hiện theo phương pháp của Sun và cs. (2024) với một số điều chỉnh [140]. Mẫu ruột non được rửa nhẹ bằng dung dịch đệm phosphate (Phosphate buffered saline - PBS) để loại bỏ dịch thừa, sau đó cố định trong dung dịch paraformaldehyde 4% (v/v) ở 4 °C trong 24 giờ.

Sau cố định, mẫu mô được khử nước qua dãy ethanol tăng dần (70%, 80%, 90%, 95% và tuyệt đối), làm trong bằng xylene và đúc vào paraffin. Các khối paraffin được cắt thành lát mỏng dày 5 µm bằng máy vi cắt quay (Leica RM2125 RTS, Đức).

Các phiến mô sau đó được loại bỏ paraffin bằng xylene, ngâm nước trở lại qua dãy ethanol giảm dần và nước cất, sau đó nhuộm hematoxylin trong 5–10 phút, rửa bằng nước, tiếp tục nhuộm eosin trong 1–3 phút.

Sau nhuộm, phiến được khử nước, làm trong bằng xylene và gắn lamên bằng nhựa gắn chuyên dụng. Quan sát mô học được thực hiện dưới kính hiển vi quang học (Olympus CX23, Nhật Bản) kết hợp hệ thống camera tích hợp để chụp ảnh và phân tích hình thái.

### 2.3.20. Phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA

*Thu thập và bảo quản mẫu:* Mẫu phân chuột (0,3–0,5 g) được thu tại các thời điểm định sẵn cho vào ống ly tâm vô trùng 2 mL và bảo quản ở –80 °C cho đến khi phân tích.

Các quy trình phân tích hệ gen 16S rRNA được thực hiện bởi Công ty Cổ phần Phù Sa Genomics.

*Chiết xuất và định lượng DNA:* Khoảng 200 mg mẫu được sử dụng để chiết DNA tổng số bằng bộ kit QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hoa Kỳ) theo hướng dẫn nhà sản xuất. Nồng độ và độ tinh sạch DNA được kiểm tra bằng Qubit 4.0 fluorometer kết hợp Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ) [141].

*Khuếch đại gen đích và xây dựng thư viện:* Vùng V3–V4 của gen 16S rRNA được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi phổ biến: Mồi xuôi (Forward) 5'-ACTC CTACGGGAGGCAGCAG-3' và mồi ngược (Reverse) 5'-GGACTACHVGGGT WTCTAAT-3'. Quy trình chạy PCR gồm 2 vòng:

- PCR vòng 1: 1 chu kỳ khởi đầu 94 °C/3 phút; 14–16 chu kỳ gồm 94 °C/30 giây, 53 °C/30 giây, 72 °C/30 giây; kết thúc 72 °C/5 phút.
- PCR vòng 2: 1 chu kỳ khởi đầu 94 °C/3 phút; 10–12 chu kỳ gồm 94 °C/10 giây, 60 °C/30 giây, 72 °C/15 giây; kết thúc 72 °C/5 phút.

Sản phẩm PCR (~460–600 bp) được kiểm tra bằng điện di gel agarose 1,5%, tinh sạch bằng AMPure XP beads (Beckman Coulter, Thụy Sĩ) và rửa giải trong nước không chứa DNase. DNA thư viện được định lượng bằng QuantiFluor-ST (Promega, Hoa Kỳ) và kiểm tra chất lượng bằng qPCR sử dụng KAPA Library Quantification Kit for Illumina (nồng độ yêu cầu  $\geq 0,3$  nM) [142].

*Giải trình tự và xử lý dữ liệu:* Thư viện đạt yêu cầu được giải trình tự trên hệ thống Illumina MiSeq (Illumina, Hoa Kỳ) với chế độ paired-end  $2 \times 250$  bp (mục tiêu  $\geq 100.000$  lần đọc (reads)/mẫu). Dữ liệu FASTQ được xử lý bằng QIIME2, pipeline DADA2 để lọc lỗi đọc và xây dựng amplicon sequence variants (ASV). Trình tự được phân loại bằng phương pháp classified-consensus-blast với cơ sở dữ liệu SILVA SSURef v138. Các reads kém chất lượng ( $Q < 20$ , độ dài  $< 100$  bp) và adapter được loại bỏ bằng Cutadapt 2.10 [127].

*Phân tích đa dạng và dự đoán chức năng:* Đa dạng alpha (ACE, Shannon, Simpson, Faith's PD), đa dạng beta (PCoA dựa trên Bray-Curtis) được tính toán để đánh giá độ sâu trình tự và phong phú loài. Dự đoán chức năng vi sinh vật được thực hiện bằng PICRUST2 v2.5.3, tạo hồ sơ chức năng gồm KEGG Pathways (MetaCyc), KEGG Orthology (KO) và Enzyme Commission (EC) [143].

### **2.3.21. Phương pháp xử lý số liệu**

Dữ liệu thô được tiền xử lý và tính toán các chỉ số thống kê mô tả (giá trị trung bình, độ lệch chuẩn) bằng Microsoft Excel. Phân tích phương sai (ANOVA) được thực hiện trên phần mềm Statgraphics Centurion 18, kết hợp kiểm định hậu nghiệm Duncan để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức với mức ý nghĩa

$p < 0,05$ . Ngoài ra, phần mềm XLSTAT được sử dụng cho các phân tích đa biến, bao gồm phân tích thành phần chính (PCA), phân tích phân cụm (CA) và phân tích tương quan Spearman (R) nhằm đánh giá mối quan hệ giữa các biến.

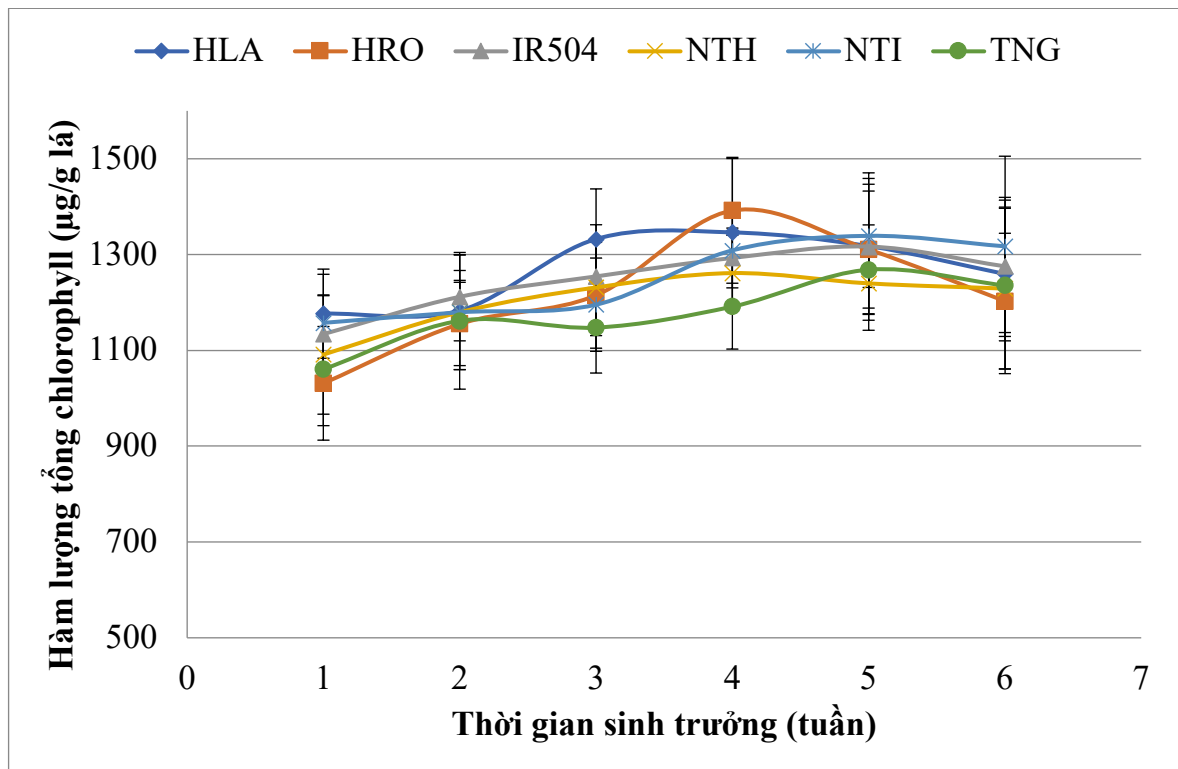
### Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá trong lá lúa non

##### 3.1.1. Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá trong lá lúa non

##### 3.1.1.1. Hàm lượng chlorophyll tổng

Chlorophyll là sắc tố quang hợp chính, đóng vai trò thiết yếu trong hấp thụ ánh sáng và chuyển hoá vật chất ở thực vật. Hàm lượng chlorophyll trong lá lúa biến động theo giống, mùa vụ và giai đoạn sinh trưởng [144]. Dựa vào hình 3.1, hàm lượng chlorophyll tổng của sáu giống lúa tăng dần từ tuần 1 đến tuần 5, sau đó giảm nhẹ ở tuần 6. Cụ thể, giá trị chlorophyll tổng dao động từ 1147,59 đến 1391,90  $\mu\text{g/g}$  lá. Giống HLA đạt đỉnh ở tuần 3 (1332,48  $\mu\text{g/g}$  lá); NTI, IR504 và TNG đạt cao nhất ở tuần 5; riêng giống HRO ghi nhận giá trị cao nhất trong toàn bộ thí nghiệm ở tuần 4 (1391,90  $\mu\text{g/g}$  lá) nhưng có mức giảm mạnh nhất ở tuần 6 (1202,76  $\mu\text{g/g}$  lá). Phân tích thống kê ghi nhận tuần 4 và 5 là giai đoạn tối ưu chứa lượng chlorophyll tổng cao nhất ( $p > 0,05$  giữa hai tuần này, Bảng P1.1.1).



**Hình 3.1. Hàm lượng chlorophyll tổng trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng**

Xét theo giống, hàm lượng chlorophyll tổng có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), ngoại trừ IR504 và NTI ( $p > 0,05$ ). Nhóm giống IR504, NTI và HLA có hàm lượng cao hơn so với HRO, NTH và TNG.

Về ảnh hưởng của che sáng, điều kiện không che và che một lớp lưới giúp duy trì chlorophyll tổng cao hơn đáng kể so với che hai lớp lưới ( $p < 0,05$ , Bảng 3.1). Trong đó, HLA, NTI và IR504 cho giá trị cao nhất khi không che sáng. Dưới một lớp lưới, chlorophyll tăng nhẹ ở HRO, IR504 và NTH, nhưng giảm nhẹ ở các giống còn lại. TNG có hàm lượng thấp nhất ở cả ba điều kiện, đặc biệt trong điều kiện che hai lớp lưới.

**Bảng 3.1. Hàm lượng chlorophyll tổng ( $\mu\text{g/g}$  lá) trong lá lúa theo điều kiện che sáng**

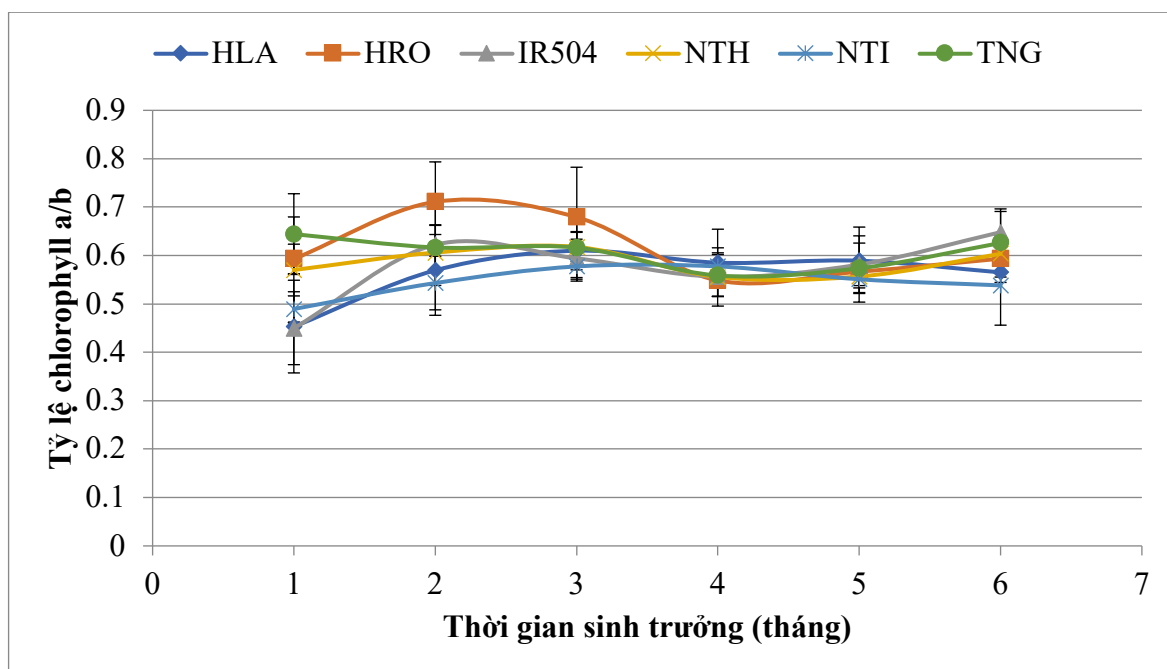
| Giống lúa | Không che sáng                     | Một lớp lưới                  | Hai lớp lưới                 |
|-----------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| HLA       | <b>1360,58<sup>c</sup>±108,88</b>  | 1347,82 <sup>b</sup> ±85,92   | 1099,46 <sup>b</sup> ±58,12  |
| HRO       | 1288,29 <sup>ab</sup> ±113,73      | 1295,47 <sup>ab</sup> ±128,11 | 1069,6 <sup>ab</sup> ±123,18 |
| IR504     | <b>1312,13<sup>abc</sup>±93,32</b> | 1320,15 <sup>ab</sup> ±86,33  | 1110,52 <sup>b</sup> ±78,47  |
| NTH       | 1267,32 <sup>ab</sup> ±49,23       | 1291,79 <sup>ab</sup> ±69,03  | 1057,23 <sup>ab</sup> ±85,14 |
| NTI       | <b>1331,83<sup>bc</sup>±105,25</b> | 1317,35 <sup>ab</sup> ±77,19  | 1099,64 <sup>b</sup> ±91,61  |
| TNG       | 1258,32 <sup>a</sup> ±80,36        | 1256,84 <sup>a</sup> ±82,38   | 1017,51 <sup>a</sup> ±84,24  |
| CV%       | 7,02                               | 6,76                          | 8,09                         |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  SD. Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giống lúa trong cùng một điều kiện che sáng ( $p < 0,05$ ).*

Như vậy, hàm lượng chlorophyll tổng bị ảnh hưởng mạnh bởi điều kiện ánh sáng. Điều kiện thiếu ánh sáng quá mức (che hai lớp lưới) làm giảm tổng hợp chlorophyll, phản ánh sự phụ thuộc của quá trình quang hợp vào ánh sáng. Tóm lại, thời điểm thu hoạch tối ưu là tuần 4–5, đặc biệt ở các giống HLA, IR504 và NTI trồng trong điều kiện không che sáng.

#### **3.1.1.2. Tỷ lệ chlorophyll a/b**

Tỷ lệ chlorophyll a/b phản ánh sự cân bằng giữa hai dạng sắc tố quang hợp chính và thay đổi theo giai đoạn sinh trưởng cũng như đặc tính giống (Hình 3.2). Trong ba tuần đầu, tỷ lệ này biến động tùy theo giống: IR504 tăng rõ rệt từ 0,45 lên 0,62 trong tuần 1–2, trong khi NTH và NTI duy trì ổn định. Giống HRO đạt tỷ lệ cao nhất vào tuần 2 (0,71), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các giống khác ( $p < 0,05$ , Bảng P1.1.2). Nhìn chung, các giống NTH, HRO và TNG có tỷ lệ chlorophyll a/b cao hơn đáng kể ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.2. Tỷ lệ chlorophyll a/b trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng**

Tỷ lệ chlorophyll a/b giữa các điều kiện che sáng khác nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng 3.2 và P1.1.2). Tuy nhiên, trong các điều kiện không che sáng và che sáng bằng một lớp lưới, tỷ lệ chlorophyll a/b biểu hiện sự biến thiên giữa các giống lúa.

Về ảnh hưởng của điều kiện che sáng, phân tích cho thấy tỷ lệ chlorophyll a/b không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ba điều kiện ( $p > 0,05$ ), nhưng có sự biến thiên rõ rệt giữa các giống trong từng điều kiện cụ thể.

**Bảng 3.2. Tỷ lệ chlorophyll a/b trong lá lúa theo điều kiện che sáng**

| Giống lúa | Không che sáng*               | Một lớp lưới*             | Hai lớp lưới <sup>ns</sup> |
|-----------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| HLA       | 0,511 <sup>a</sup> ±0,09      | 0,567 <sup>ab</sup> ±0,07 | 0,609±0,05                 |
| HRO       | <b>0,662<sup>d</sup>±0,16</b> | 0,593 <sup>b</sup> ±0,07  | 0,591±0,03                 |
| IR504     | 0,576 <sup>abc</sup> ±0,09    | 0,569 <sup>ab</sup> ±0,10 | 0,581±0,06                 |
| NTH       | 0,588 <sup>bc</sup> ±0,06     | 0,576 <sup>ab</sup> ±0,05 | 0,590±0,07                 |
| NTI       | 0,524 <sup>ab</sup> ±0,05     | 0,539 <sup>a</sup> ±0,05  | 0,575±0,06                 |
| TNG       | 0,605 <sup>cd</sup> ±0,07     | 0,598 <sup>b</sup> ±0,05  | 0,615±0,08                 |
| CV%       | 14,79                         | 11,34                     | 9,82                       |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình ± SD. \*: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một điều kiện che sáng ( $p < 0,05$ ). ns: Trong cùng một cột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).*

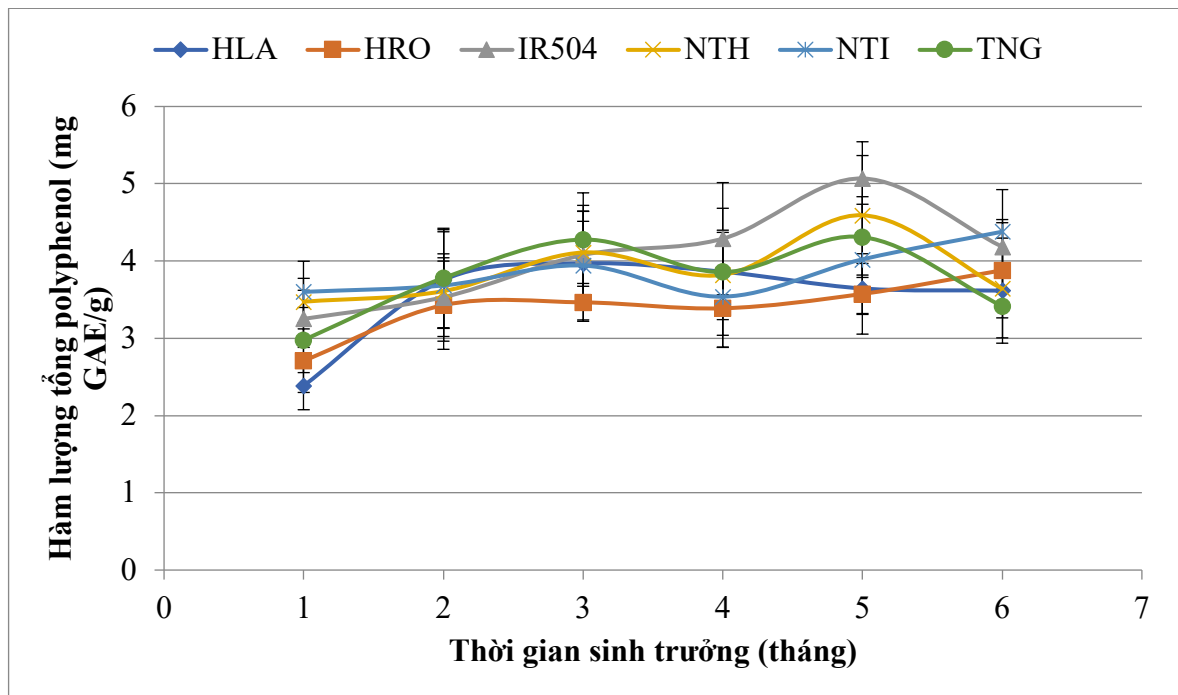
Trong điều kiện không che sáng, HRO có tỷ lệ chlorophyll a/b cao nhất (0,66), còn HLA thấp nhất (0,51), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Tương tự, ở điều kiện che sáng một lớp lưới, giống HRO và TNG vẫn duy trì tỷ lệ cao hơn so với NTI ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, ở điều kiện che sáng hai lớp lưới, sự khác biệt giữa các giống không còn ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Xét theo mức độ che sáng, tỷ lệ chlorophyll a/b cao nhất trong điều kiện che sáng hai lớp lưới, tiếp theo là không che sáng, và thấp nhất ở điều kiện che sáng một lớp lưới.

Tóm lại, tỷ lệ chlorophyll a/b chịu ảnh hưởng bởi giai đoạn sinh trưởng, điều kiện chiếu sáng và giống lúa. Trong mọi điều kiện, chlorophyll a có xu hướng thấp hơn chlorophyll b, phản ánh chiến lược thích ứng của cây với cường độ ánh sáng khác nhau trong môi trường trồng trọt.

### 3.1.1.3. Hàm lượng polyphenol tổng

Tương tự chlorophyll, hàm lượng polyphenol tổng trong lá lúa biến động theo thời gian sinh trưởng và khác biệt giữa các giống (Hình 3.3). Nhìn chung, giá trị polyphenol tổng có xu hướng tăng từ tuần 1 đến tuần 5, sau đó giảm nhẹ vào tuần 6.



**Hình 3.3. Hàm lượng polyphenol tổng trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng**

Cụ thể, giống IR504 đạt hàm lượng cao nhất vào tuần 5 (5,07 mg GAE/g lá), tiếp theo là TNG (4,59 mg GAE/g lá) và NTH (4,31 mg GAE/g lá). Ngược lại, giống HLA đạt đỉnh sớm hơn vào tuần 3, trong khi NTI và HRO ghi nhận mức cao nhất vào tuần 6 (tương ứng 4,38 và 3,88 mg GAE/g lá). Phân tích thống kê

cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa các thời điểm ( $p < 0,05$ ), trừ tuần 4 và tuần 6 ( $p > 0,05$ ). Trong số các giống, IR504 ghi nhận hàm lượng polyphenol tổng cao nhất, với sự khác biệt có ý nghĩa giữa các giống và các tuần ( $p < 0,05$ ) (Bảng P.1.1.3).

Hàm lượng polyphenol tổng chịu ảnh hưởng lớn bởi điều kiện che sáng (Bảng 3.3). Trong điều kiện không che sáng, hàm lượng polyphenol cao nhất (5,21–6,09 mg GAE/g lá). Khi che bằng một lớp lưới, giá trị này giảm khoảng 50% (3,12–3,97 mg GAE/g lá), và giảm mạnh nhất khi che hai lớp lưới (1,78–2,54 mg GAE/g lá). Phân tích thống kê xác nhận sự khác biệt rõ rệt giữa các điều kiện ( $p < 0,05$ ), trong đó không che sáng cho giá trị cao nhất.

Ở điều kiện không che sáng, giống NTH và NTI đạt hàm lượng polyphenol tổng cao nhất (6,09 và 6,07 mg GAE/g lá), cao hơn có ý nghĩa so với các giống khác ( $p < 0,05$ ). Giống HRO có giá trị thấp nhất (5,21 mg GAE/g lá). Trong điều kiện che sáng bằng một lớp và hai lớp lưới, IR504 tiếp tục thể hiện ưu thế với hàm lượng lần lượt là 3,97 và 2,54 mg GAE/g lá, cao hơn đáng kể so với các giống khác ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.3. Hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g lá) của lá lúa theo điều kiện che sáng**

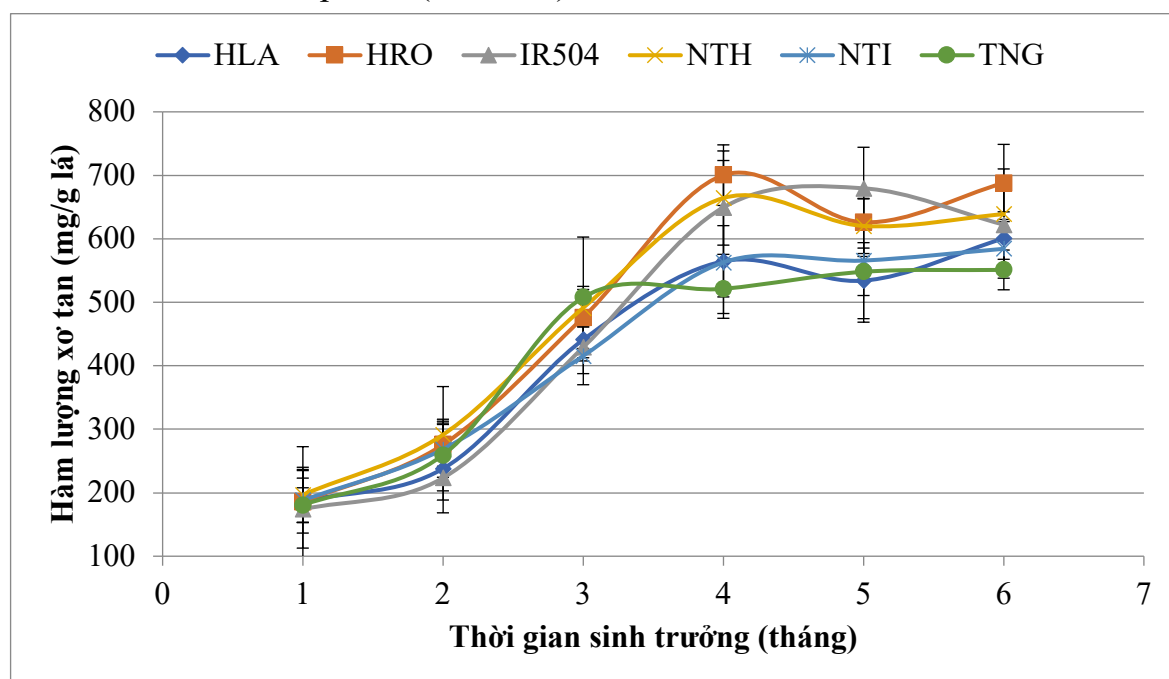
| <b>Giống lúa</b> | <b>Không che sáng</b>         | <b>Một lớp lưới</b>      | <b>Hai lớp lưới</b>      |
|------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| HLA              | <b>5,65<sup>ab</sup>±0,90</b> | 3,18 <sup>a</sup> ±0,36  | 1,78 <sup>a</sup> ±0,42  |
| HRO              | 5,21 <sup>a</sup> ±0,58       | 3,12 <sup>a</sup> ±0,48  | 1,89 <sup>a</sup> ±0,51  |
| IR504            | <b>5,69<sup>ab</sup>±0,74</b> | 3,97 <sup>c</sup> ±0,46  | 2,54 <sup>b</sup> ±0,76  |
| NTH              | 6,09 <sup>b</sup> ±0,91       | 3,37 <sup>ab</sup> ±0,46 | 2,15 <sup>ab</sup> ±0,79 |
| NTI              | 6,07 <sup>b</sup> ±0,32       | 3,57 <sup>b</sup> ±0,56  | 1,94 <sup>a</sup> ±0,59  |
| TNG              | 5,82 <sup>b</sup> ±0,83       | 3,57 <sup>b</sup> ±0,60  | 1,91 <sup>a</sup> ±0,68  |
| CV%              | 12,42                         | 14,07                    | 30,54                    |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình ± SD. Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giống lúa trong cùng một điều kiện che sáng ( $p < 0,05$ ).*

Nhìn chung, ánh sáng mạnh kích thích quá trình tích lũy polyphenol trong lá lúa, với sự suy giảm rõ rệt khi che sáng. Lá lúa giống IR504 nổi bật với hàm lượng polyphenol cao nhất, đặc biệt vào tuần thứ năm trong điều kiện không che sáng. Điều này khẳng định vai trò quan trọng của ánh sáng trong điều hòa tổng hợp các hợp chất phenolic ở cây lúa.

### 3.1.1.4. Hàm lượng xơ tan

Hàm lượng xơ tan trong lá lúa tăng dần từ tuần thứ nhất đến tuần thứ tư và ổn định ở các tuần tiếp theo (Hình 3.4).



**Hình 3.4. Hàm lượng xơ tan trong lá lúa theo thời gian sinh trưởng**

Cụ thể, từ mức khoảng 200 mg/g lá ở tuần đầu, hàm lượng tăng lên 550–700 mg/g lá vào tuần thứ tư, duy trì đến tuần thứ sáu. Xu hướng này tương đối đồng nhất giữa các giống, không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng P.1.1.4). Tuy nhiên, so với các tuần đầu, hàm lượng xơ tan ở tuần thứ tư, năm và sáu cao hơn có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.4. Hàm lượng xơ tan (mg/g lá) trong lá lúa theo điều kiện che sáng**

| Giống lúa | Không che sáng <sup>ns, a</sup> | Một lớp lưới <sup>ns, b</sup> | Hai lớp lưới <sup>ns, c</sup> |
|-----------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| HLA       | 411,13±157,22                   | 440,83±176,71                 | 430,43±173,64                 |
| HRO       | 453,63±179,26                   | <b>490,00±195,51</b>          | <b>518,82±185,87</b>          |
| IR504     | 412,19±180,34                   | 433,57±188,08                 | 478,33±197,88                 |
| NTH       | 434,29±161,80                   | <b>469,32±165,60</b>          | <b>514,02±197,91</b>          |
| NTI       | 395,09±141,37                   | 419,40±169,90                 | 477,99±186,01                 |
| TNG       | 395,23±163,55                   | 389,04±173,57                 | 423,16±166,66                 |
| CV%       | 39,32                           | 40,63                         | 39,06                         |

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  SD. Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các điều kiện che sáng ( $p < 0,05$ ). ns: Trong cùng một cột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giống lúa ( $p > 0,05$ ).

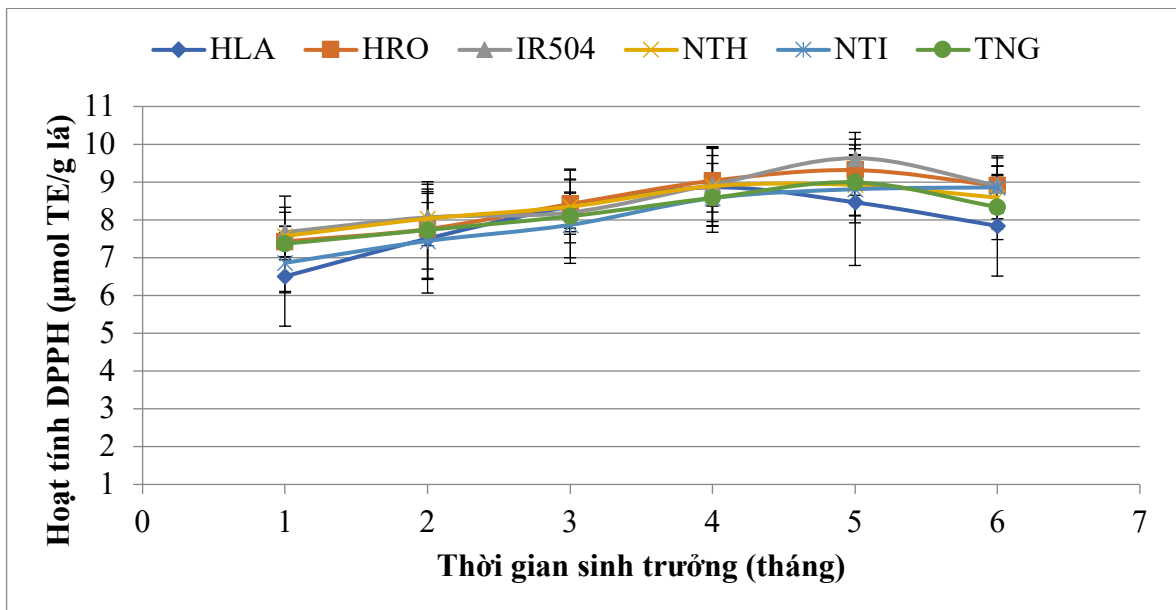
Theo điều kiện che sáng, trái ngược với chlorophyll và polyphenol, xơ tan tích lũy nhiều hơn dưới điều kiện che sáng mạnh (Bảng 3.4). Cụ thể, không che sáng, giá trị này đạt 395,09–453,63 mg/g lá; che sáng một lớp lưới đạt 389,04–490,00 mg/g lá; che sáng hai lớp lưới: 423,16–544,67 mg/g lá (cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,05$ ).

Các giống HRO, NTH và NTI phản ứng mạnh với điều kiện che sáng, với hàm lượng xơ tan cao hơn rõ rệt dưới một và hai lớp lưới so với điều kiện không che. Mặc dù giống TNG đạt giá trị cao nhất ở điều kiện che sáng hai lớp (544,67 mg/g lá), sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê khi so với các giống khác ( $p > 0,05$ ).

Tóm lại, điều kiện che sáng bằng hai lớp lưới kết hợp với giai đoạn sinh trưởng từ tuần thứ tư trở đi là yếu tố thuận lợi nhất cho sự tích lũy xơ tan trong lá lúa.

#### 3.1.1.5. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của lá lúa chịu ảnh hưởng bởi thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng (Hình 3.5; Bảng 3.5).



**Hình 3.5. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của lá lúa theo thời gian sinh trưởng**

Chiết xuất lá lúa thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tăng dần từ tuần đầu, đạt đỉnh ở tuần thứ năm đối với hầu hết giống, sau đó giảm nhẹ. Giống IR504 và HRO ghi nhận giá trị cao nhất lần lượt là 9,63 và 9,32  $\mu\text{mol TE/g}$  lá (tuần 5). Giống HLA đạt đỉnh sớm ở tuần 4 (8,86  $\mu\text{mol TE/g}$  lá), trong khi NTI đạt cao nhất vào tuần 6 (8,86  $\mu\text{mol TE/g}$  lá). Phân tích thống kê xác nhận hoạt tính DPPH cao nhất

tại tuần 5, với sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.1.5). Trong số các giống, IR504 biểu hiện hoạt tính cao nhất ( $p < 0,05$ ).

Về điều kiện ánh sáng, không che sáng giúp tăng hoạt tính DPPH đáng kể so với che một và hai lớp lưới (Bảng 3.5), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Trong điều kiện không che sáng, sự khác biệt giữa các giống không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ).

Trong điều kiện che một lớp, giống HRO đạt giá trị cao nhất ( $8,63 \mu\text{mol TE/g lá}$ ), NTI thấp nhất ( $7,97 \mu\text{mol TE/g lá}$ ). Ở điều kiện che hai lớp, HLA có hoạt tính thấp nhất ( $6,44 \mu\text{mol TE/g lá}$ ), khác biệt rõ rệt với IR504 ( $7,90$ ) và HRO ( $7,76$ ) ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.5. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH ( $\mu\text{mol TE/g lá}$ ) của lá lúa theo điều kiện che sáng**

| Giống lúa | Không che sáng <sup>ns</sup> | Một lớp lưới*            | Hai lớp lưới*            |
|-----------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| HLA       | 9,17±0,85                    | 8,16 <sup>ab</sup> ±0,91 | 6,44 <sup>a</sup> ±0,80  |
| HRO       | 9,05±0,77                    | 8,63 <sup>b</sup> ±0,89  | 7,76 <sup>cd</sup> ±0,73 |
| IR504     | <b>9,39±0,82</b>             | 8,42 <sup>ab</sup> ±0,76 | 7,90 <sup>d</sup> ±0,59  |
| NTH       | <b>9,37±0,67</b>             | 8,17 <sup>ab</sup> ±0,51 | 7,64 <sup>cd</sup> ±0,43 |
| NTI       | 8,92±0,86                    | 7,97 <sup>a</sup> ±0,71  | 7,32 <sup>bc</sup> ±0,88 |
| TNG       | 9,42±0,40                    | 8,15 <sup>ab</sup> ±0,61 | 6,98 <sup>b</sup> ±0,77  |
| CV%       | 7,92                         | 8,85                     | 9,66                     |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  SD. \*: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giống lúa trong cùng một điều kiện che sáng ( $p < 0,05$ ). ns: Trong cùng một cột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.*

Tóm lại, ánh sáng mạnh là yếu tố thúc đẩy hoạt tính chống oxy hóa trong lá lúa, với giá trị cao nhất ghi nhận ở giống IR504 tại tuần thứ 5 dưới điều kiện không che sáng.

### **3.1.1.6. Phân tích mối tương quan giữa hàm lượng hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa non**

Nhằm đánh giá mối liên hệ giữa các chỉ tiêu sinh hóa, nghiên cứu đã thực hiện phân tích tương quan Spearman và phân tích phân cụm đa biến theo thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng (Bảng 3.6, Hình 3.6).

Dựa trên kết quả phân tích Spearman, hàm lượng chlorophyll tổng có tương quan mạnh với chlorophyll a ( $R=0,908$ ;  $p < 0,01$ ) và chlorophyll b ( $R=0,818$ ;  $p < 0,01$ ). Polyphenol tổng tương quan chặt chẽ với hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

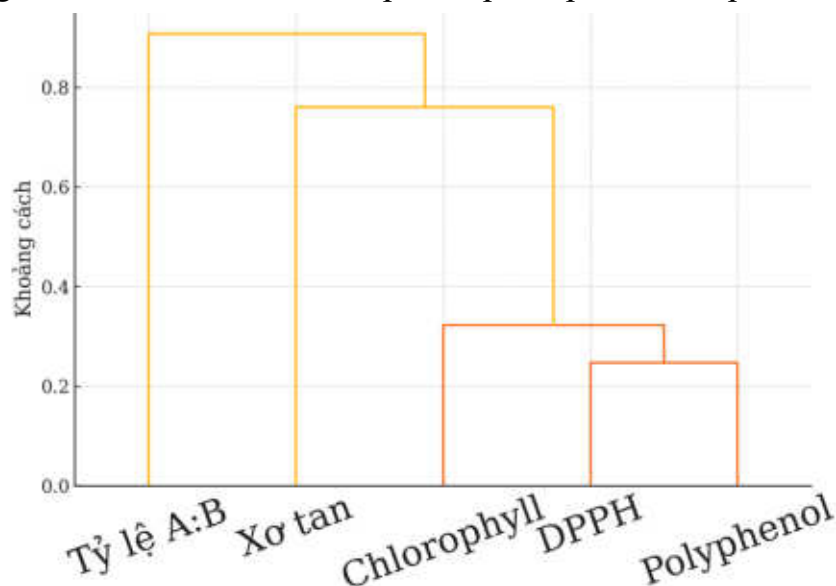
( $R=0,752$ ;  $p<0,01$ ), đồng thời cũng có mối liên hệ với chlorophyll tổng ( $R=0,635$ ;  $p<0,01$ ). Hoạt tính DPPH cũng có liên quan đến hàm lượng chlorophyll tổng ( $R=0,720$ ;  $p<0,01$ ). Ngược lại, xơ tan có tương quan yếu với các chỉ tiêu còn lại, trong khi tỷ lệ chlorophyll a/b không tương quan đáng kể với bất kỳ biến nào ( $p>0,05$ ).

**Bảng 3.6. Hệ số tương quan Spearman (R) giữa các chỉ tiêu sinh hoá của lá lúa**

|         | Chl     | Chl a/b              | Poly                | DPPH   | Xơ tan |
|---------|---------|----------------------|---------------------|--------|--------|
| Chl     | 1,000   |                      |                     |        |        |
| Chl a/b | -0,170* | 1,000                |                     |        |        |
| Poly    | 0,635*  | -0,084 <sup>ns</sup> | 1,000               |        |        |
| DPPH    | 0,720*  | -0,034 <sup>ns</sup> | 0,752*              | 1,000  |        |
| Xơ tan  | 0,300*  | 0,083 <sup>ns</sup>  | 0,005 <sup>ns</sup> | 0,416* | 1,000  |

Ghi chú: \*: có ý nghĩa thống kê ( $p<0,01$ ), ns: không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ), Chl=chlorophyll, Poly=polyphenol.

Phân tích cụm (phương pháp trung bình nhóm với khoảng cách bình phương Euclidean) xác định hai nhóm biến có mối liên hệ gần gũi: (1) polyphenol và DPPH; (2) chlorophyll tổng, chlorophyll a và chlorophyll b. Trong khi đó, hàm lượng xơ tan và tỷ lệ chlorophyll a/b tách biệt rõ, phản ánh mối liên hệ yếu hoặc không đáng kể với các nhóm còn lại, phù hợp với phân tích Spearman.



**Hình 3.6. Phân tích cụm giữa hàm lượng các chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa**

Tóm lại, hàm lượng polyphenol và chlorophyll là các yếu tố có mối tương quan cao với hoạt tính chống oxy hóa của lá lúa, và bị chi phối bởi giai đoạn sinh trưởng cũng như cường độ ánh sáng.

### ***3.1.1.7. Đánh giá ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa non***

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng chlorophyll, tỷ lệ chlorophyll a/b, polyphenol, xơ tan và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH trong lá lúa non.

Trong suốt quá trình sinh trưởng, các biến đổi chuyển hóa nội tại thúc đẩy sinh tổng hợp và tích lũy các hợp chất có hoạt tính sinh học [145]. Từ giai đoạn nảy mầm đến khi cây đạt trưởng thành sinh lý, hoạt động quang hợp diễn ra mạnh mẽ, kéo theo sự gia tăng hàm lượng chlorophyll, polyphenol, xơ tan và hoạt tính chống oxy hóa trong lá [146]. Kết quả thu được phù hợp với các báo cáo trước đó của Khanthapok và cs. (2015) và Tamprasit và cs. (2019), trong đó hàm lượng các hợp chất này thay đổi theo giai đoạn sinh trưởng và khác biệt giữa các giống lúa [26,29]. Sự thay đổi hoạt tính chống oxy hóa được ghi nhận có liên quan đến sự hiện diện và nồng độ các chất chống oxy hóa nội sinh, trong đó polyphenol là nhóm hợp chất có tương quan thuận mạnh với hoạt tính DPPH [147]. Trong nghiên cứu hiện tại, mối tương quan này được xác nhận với ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Đặc biệt, giống IR504 thu hoạch vào tuần thứ năm cho hàm lượng polyphenol và hoạt tính DPPH cao nhất.

Ánh sáng là yếu tố thiết yếu đối với quá trình quang hợp và tổng hợp các chất chuyển hóa ở thực vật. Nghiên cứu trên lúa mì cho thấy điều kiện ánh sáng yếu có thể làm tăng hàm lượng chlorophyll trong lá [148]. Trong nghiên cứu này, điều kiện che sáng bằng một lớp lưới làm tăng hàm lượng chlorophyll tổng ở các giống HRO, IR504 và NTH. Tuy nhiên, che sáng quá mức (hai lớp lưới) làm giảm đáng kể chlorophyll, có thể do ảnh hưởng bất lợi đến hệ thống quang hợp [149].

Ngoài ra, cường độ ánh sáng còn ảnh hưởng đến quá trình tích lũy các hợp chất chuyển hóa thứ cấp như polyphenol. Song và cs. (2022) ghi nhận sự giảm anthocyanin trong gạo màu khi bị che sáng [150]. Ánh sáng đầy đủ có thể kích thích sinh tổng hợp polyphenol, đóng vai trò bảo vệ thực vật trước tác động của tia UV [151]. Trong nghiên cứu này, ánh sáng đầy đủ đã kích thích tổng hợp nhiều polyphenol trong lá lúa.

Chlorophyll và polyphenol đều được chứng minh có khả năng chống oxy hóa cao. Nghiên cứu này xác nhận mối liên hệ chặt chẽ giữa các hợp chất này và

hoạt tính DPPH, với sự biến động phụ thuộc vào thời gian sinh trưởng và điều kiện chiếu sáng. Phân tích tương quan đa biến và phân tích cụm đã làm rõ mối liên hệ mật thiết giữa hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa ( $p < 0,01$ ), phù hợp với các kết quả trước đó trên lá lúa, cám và hạt gạo nảy mầm [26,152].

Tóm lại, tuần thứ năm trong điều kiện không che sáng được xác định là thời điểm tối ưu để thu hoạch lá lúa non nhằm thu nhận hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất, đặc biệt đối với giống IR504.

### **3.1.2. Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa non**

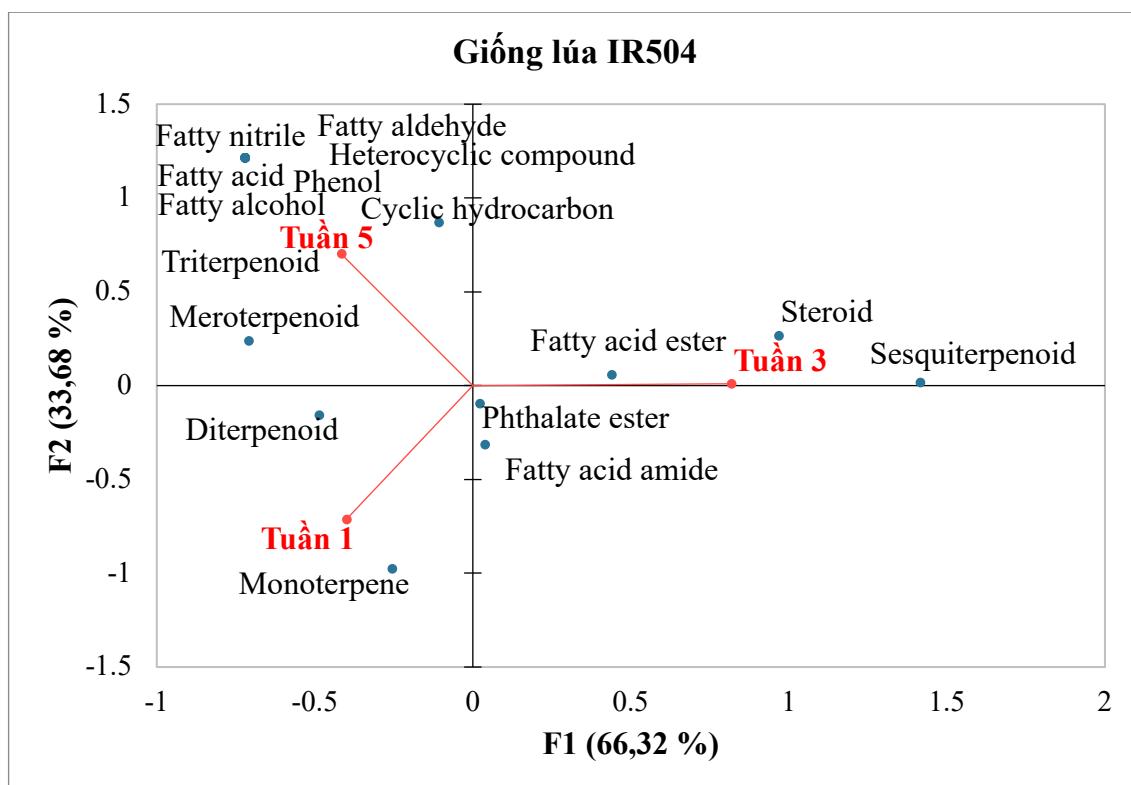
#### **3.1.2.1. *Ảnh hưởng thời gian sinh trưởng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa non***

Để khảo sát ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng đến sinh tổng hợp các hợp chất thực vật, nghiên cứu đã phân tích lá lúa của sáu giống tại ba thời điểm (tuần 1, 3 và 5) bằng phương pháp GC-MS. Kết quả được trình bày tại Phụ lục 2 (Hình P2.11–P2.13; Bảng P2.1–P2.6), và dữ liệu tổng hợp phân nhóm trong Phụ lục 1 (Bảng P1.1.7–P1.1.9). Phân tích tương ứng (Correspondence analysis – CA) được thực hiện để xác định mối liên hệ giữa giai đoạn sinh trưởng và sự biểu hiện nhóm hợp chất trong lá lúa (Hình 3.7-3.12; Bảng P1.1.10).

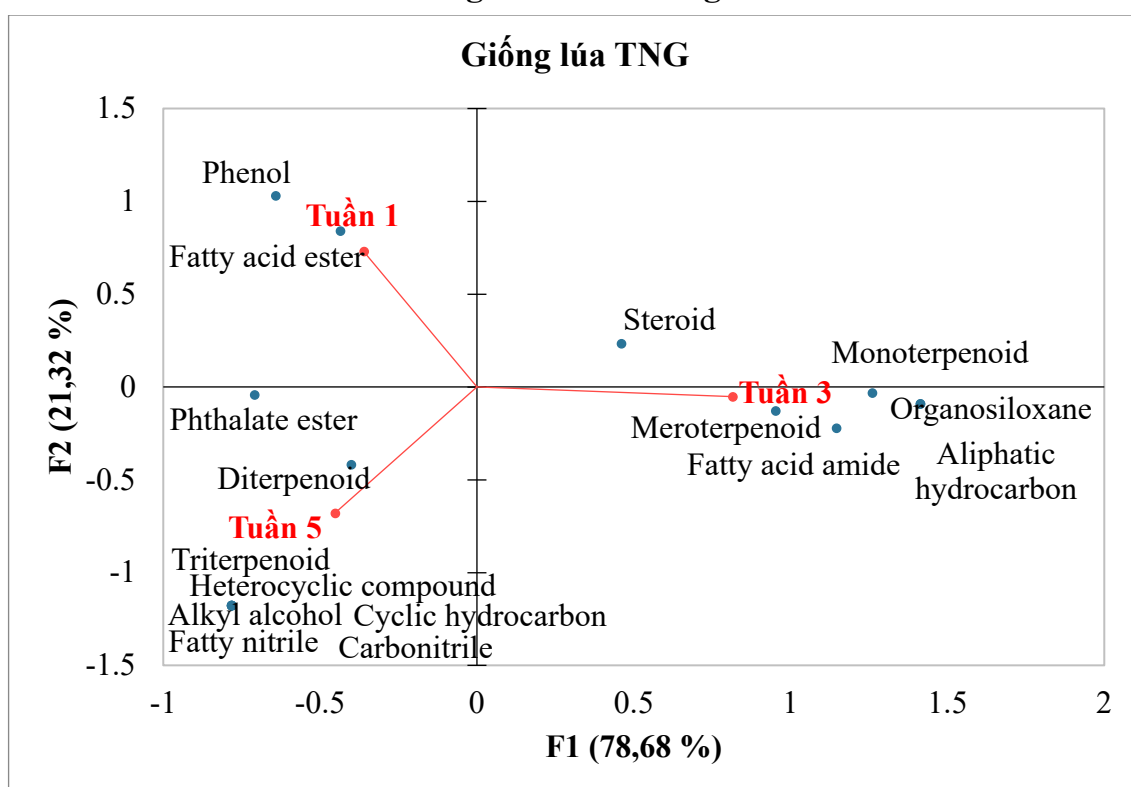
**Giống IR504:** Lá lúa ở cả ba giai đoạn tổng hợp chủ yếu diterpenoid, fatty acid ester, phthalate ester và fatty acid amide. Tuần 5 thể hiện sự đa dạng hóa hợp chất cao hơn với sự xuất hiện thêm fatty acid, fatty alcohol, fatty aldehyde, fatty nitrile, phenol, triterpenoid và heterocyclic compound. Tuần 1 ghi nhận monoterpene, còn tuần 3 ưu thế sesquiterpenoid và steroid.

**Giống TNG:** Tất cả các tuần ghi nhận diterpenoid, fatty acid ester, meroterpenoid, monoterpene và steroid. Tuần 1 chủ yếu tổng hợp fatty acid ester; tuần 3 ưu tiên meroterpenoid và steroid; tuần 5 xuất hiện nhiều hợp chất đặc trưng như alkyl alcohol, carbonitrile, cyclic hydrocarbon, fatty nitrile, heterocyclic compound và triterpenoid.

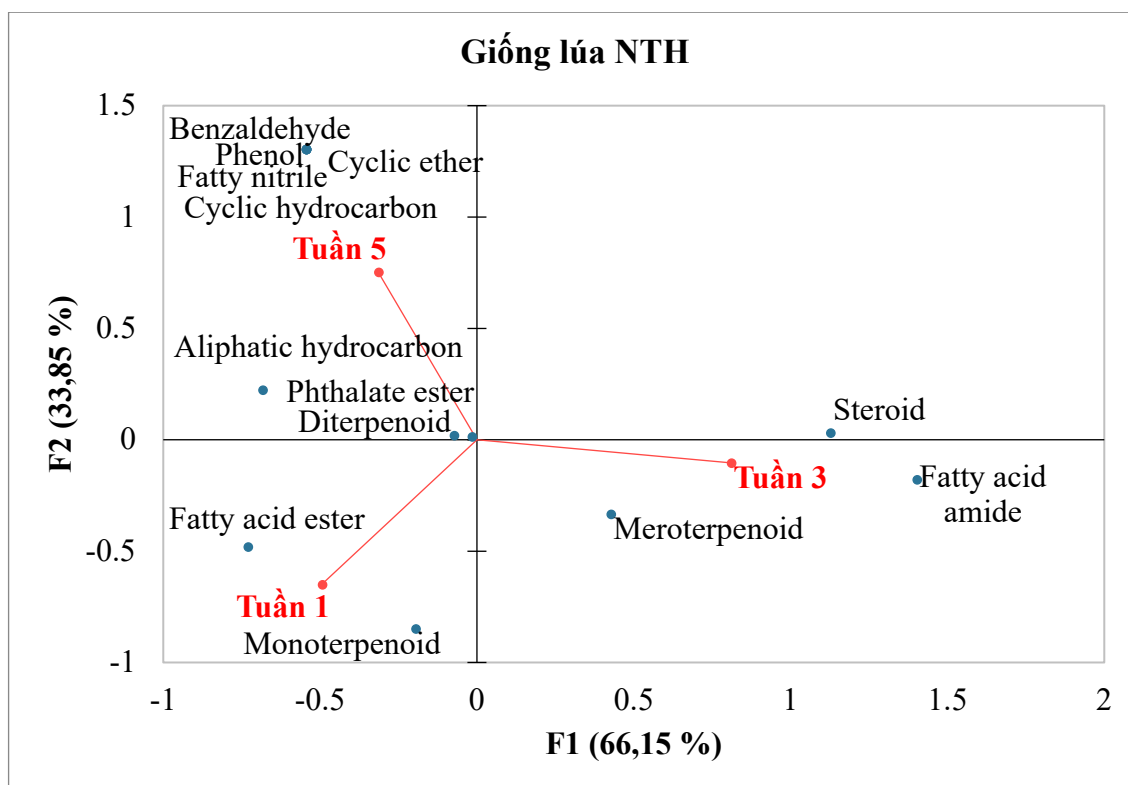
**Giống NTH:** Các hợp chất chính gồm diterpenoid, fatty acid ester, meroterpenoid và phthalate ester. Fatty acid ester và monoterpene nổi bật ở tuần 1; meroterpenoid, steroid và fatty amine tăng mạnh ở tuần 3; tuần 5 xuất hiện benzaldehyde, cyclic ether, cyclic hydrocarbon, fatty nitrile và phenol – không có ở tuần 1 và 3.



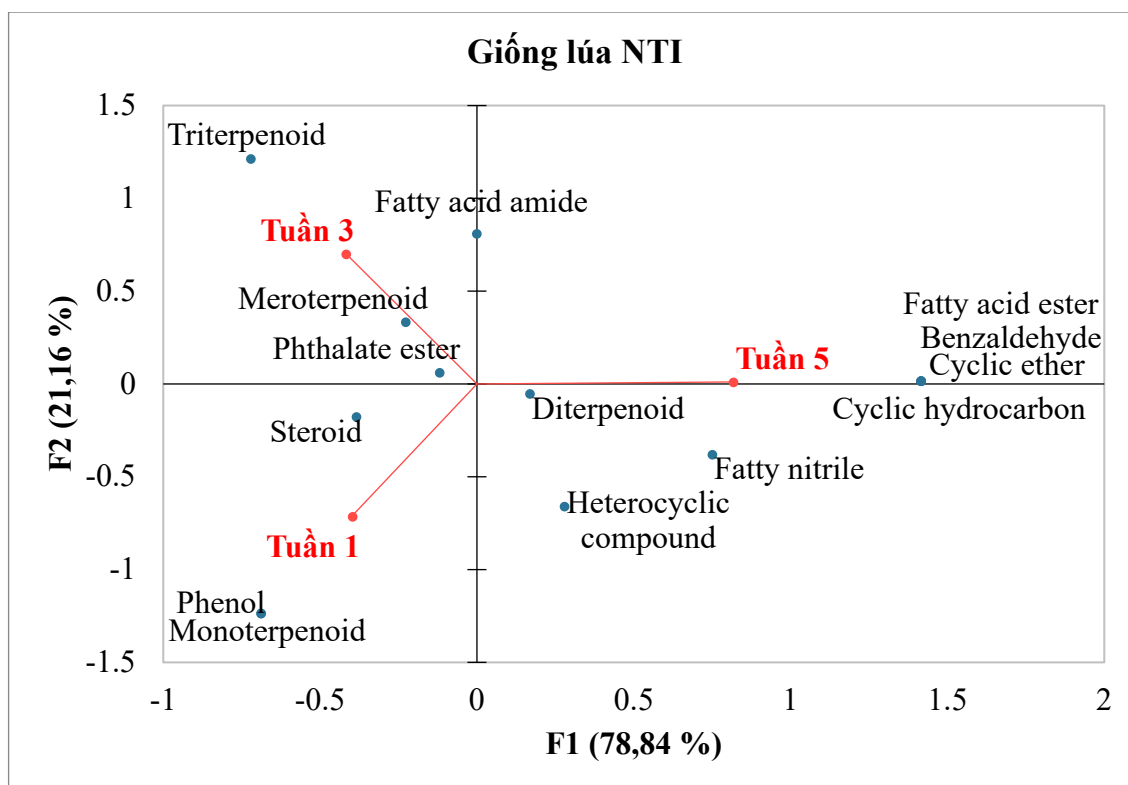
**Hình 3.7. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa IR504 theo thời gian sinh trưởng**



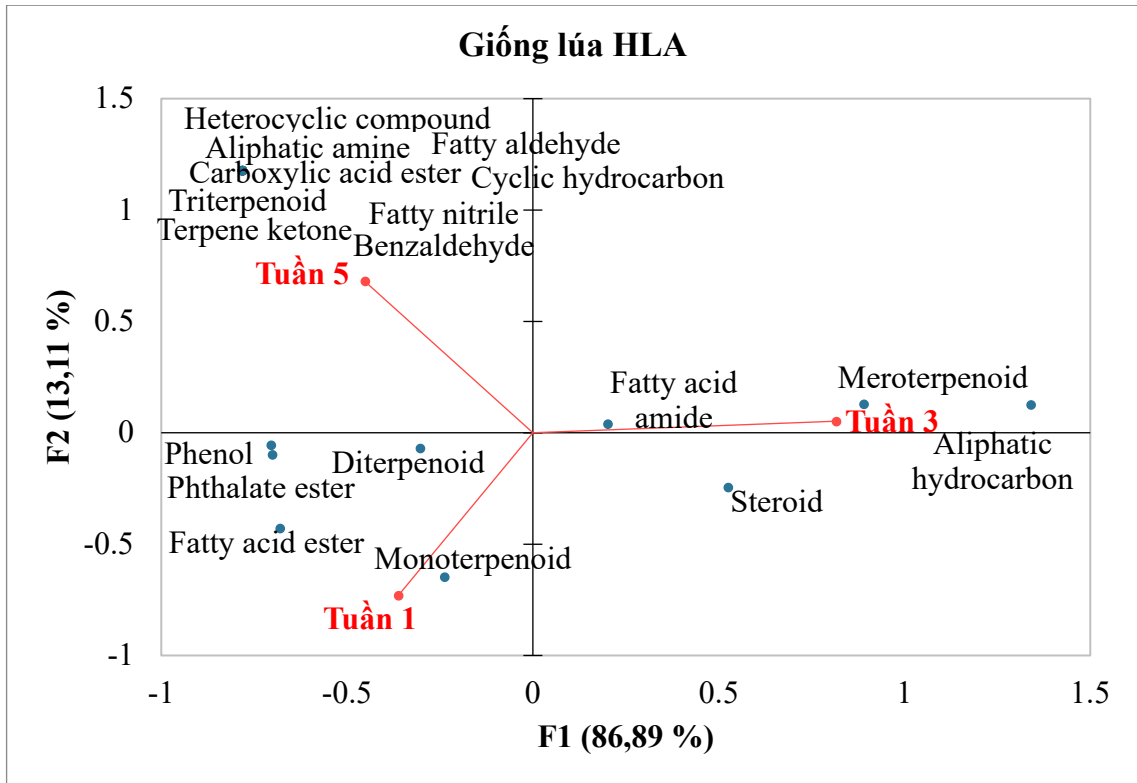
**Hình 3.8. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa TNG theo thời gian sinh trưởng**



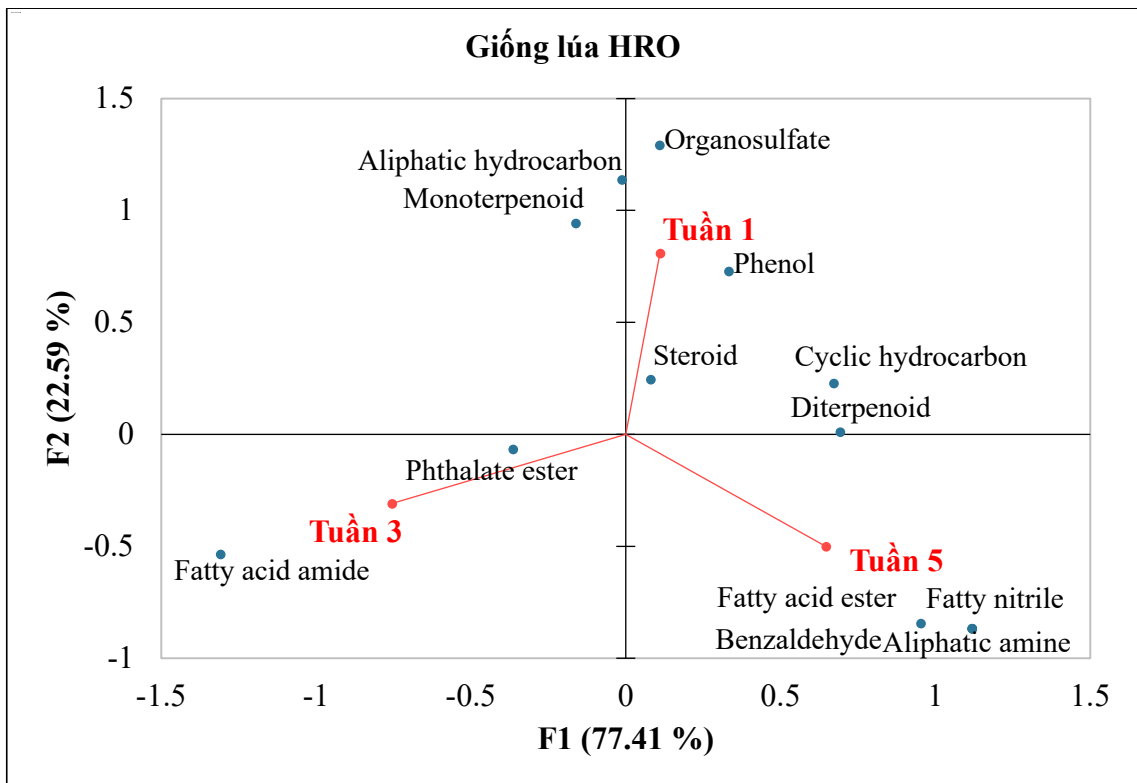
**Hình 3.9. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa NTH theo thời gian sinh trưởng**



**Hình 3.10. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa NTI theo thời gian sinh trưởng**



**Hình 3.11. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa HLA theo thời gian sinh trưởng**



**Hình 3.12. Biểu đồ CA về tổng hợp nhóm chất của giống lúa HRO theo thời gian sinh trưởng**

**Giống NTI:** Diterpenoid, meroterpenoid, este phthalate và steroid có mặt ở cả ba thời điểm. Tuần 1 xuất hiện monoterpenoid và phenol; tuần 3 có

triterpenoid; tuần 5 ghi nhận nhiều hợp chất đặc thù như benzaldehyde, cyclic ether, cyclic hydrocarbon và fatty acid ester. Fatty nitrile và heterocyclic compound xuất hiện ở tuần 1 và 5; aliphatic hydrocarbon tăng ở tuần 3.

**Giống HLA:** Diterpenoid, fatty acid amide, meroterpenoid, monoterpenoid và steroid xuất hiện ở cả ba tuần. Tuần 1 ưu tiên diterpenoid và monoterpenoid, trong khi tuần 3 tăng cường meroterpenoid và fatty acid amide. Tuần 5 có mặt nhiều hợp chất đặc trưng như fatty amine, benzaldehyde, carboxylic acid ester, cyclic hydrocarbon, fatty aldehyde, fatty nitrile, heterocyclic compound, terpene ketone và triterpenoid.

**Giống HRO:** Diterpenoid, phenol, phthalate ester và steroid được tổng hợp xuyên suốt ba tuần. Tuần 1 đặc trưng bởi monoterpenoid, fatty hydrocarbon, phenol và organosulfate; tuần 3 và 5 tăng cường dẫn xuất fatty acid (amide, ester). Fatty amine, benzaldehyde và fatty nitrile chỉ xuất hiện ở tuần 5.

Tóm lại, sự tổng hợp các hợp chất thực vật trong lá lúa biến đổi rõ rệt theo thời gian sinh trưởng. Trong đó, tuần 1 đặc trưng bởi sự xuất hiện ưu thế của monoterpenoid, fatty acid ester và phenol – đại diện cho giai đoạn khởi đầu chuyển hóa; tuần 3 tăng cường tổng hợp các hợp chất chức năng như meroterpenoid, steroid, fatty amine và aliphatic hydrocarbon – phản ánh hoạt động sinh hóa trung gian; tuần 5 đa dạng hóa mạnh với sự xuất hiện của nhiều hợp chất chuyển hóa thứ cấp như benzaldehyde, fatty nitrile, triterpenoid và heterocyclic compound – đặc trưng cho giai đoạn hoàn thiện sinh lý.

### **3.1.2.2. Ảnh hưởng điều kiện ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa**

Để làm rõ ảnh hưởng của điều kiện ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất thực vật, nghiên cứu đã tiến hành phân tích thành phần hợp chất trong lá của sáu giống lúa (IR504, NTH, TNG, HRO, NTI, HLA) ở giai đoạn sinh trưởng tuần thứ 5 dưới hai điều kiện ánh sáng: (1) không che sáng (KC) và (2) che sáng bằng hai lớp lưới đen (C). Phân tích GC-MS được thực hiện để xác định các hợp chất có trong mẫu lá, với kết quả được trình bày chi tiết trong Phụ lục 2 (Hình P2.13, P2.14; Bảng P2.7–12). Các hợp chất được phân loại theo cấu trúc và chức năng hóa học (Bảng P1.1.12–13), sau đó tiến hành phân tích đa biến gồm: phân tích tương ứng (CA) và phân cụm theo thứ bậc (AHC) (Bảng P1.1.14).

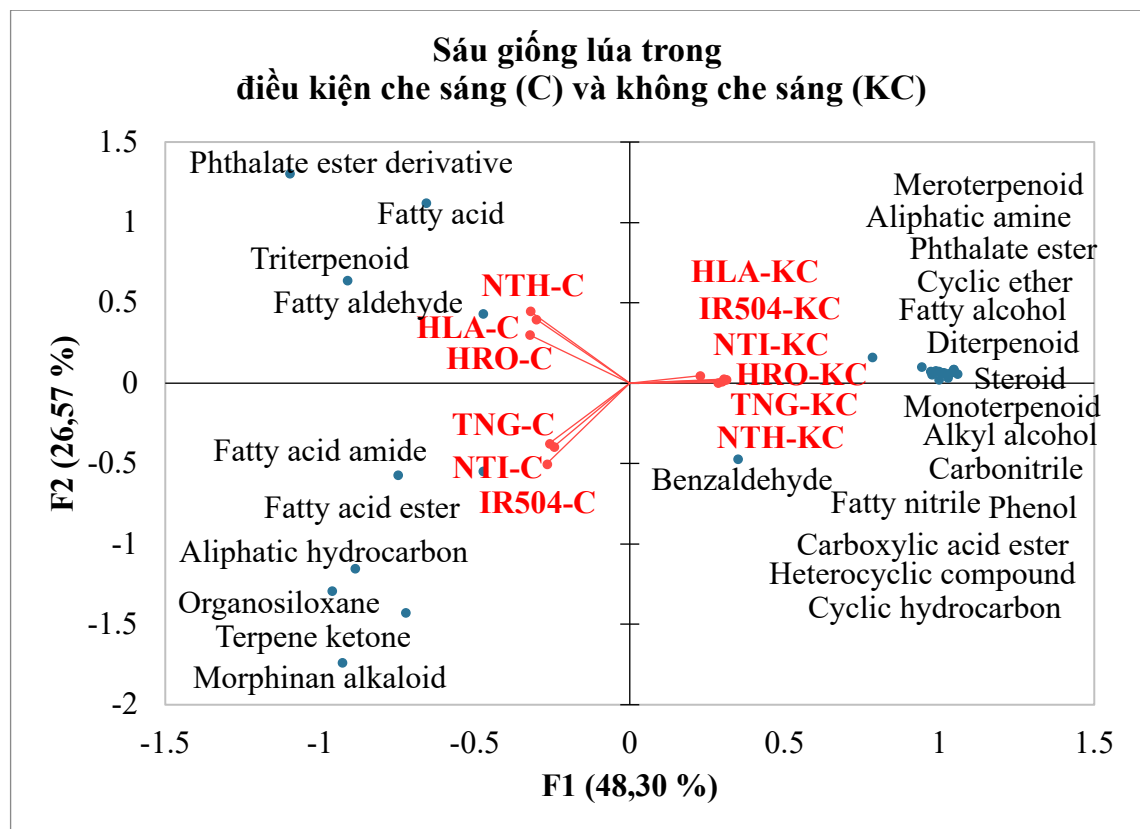
**Phân tích tương ứng (CA)** (Hình 3.13) cho thấy sự phân tách rõ ràng giữa hai nhóm mẫu theo điều kiện chiếu sáng.

Các mẫu không che sáng (IR504-KC, HLA-KC, HRO-KC, NTH-KC, TNG-KC, NTI-KC) phân bố tập trung ở bên phải trục F1, liên kết mạnh với các nhóm hợp chất đa dạng như diterpenoid, phenol, steroid, meroterpenoid, phthalate ester, fatty amine, fatty alcohol, fatty nitrile, heterocyclic compound, cyclic hydrocarbon và carbonitrile.

Trong khi đó, các mẫu che sáng (C) phân tán về phía trái trục F1, cho thấy xu hướng chuyển hóa khác biệt, được chia thành hai nhóm:

+ Nhóm NTH-C, HLA-C, HRO-C: liên kết với các chất như fatty acid, triterpenoid, fatty aldehyde, và dẫn xuất phthalate ester.

+ Nhóm TNG-C, NTI-C, IR504-C: ưu tiên các chất như fatty acid amide, fatty acid ester, aliphatic hydrocarbon, organosiloxane, terpene ketone, và morphinan alkaloid.



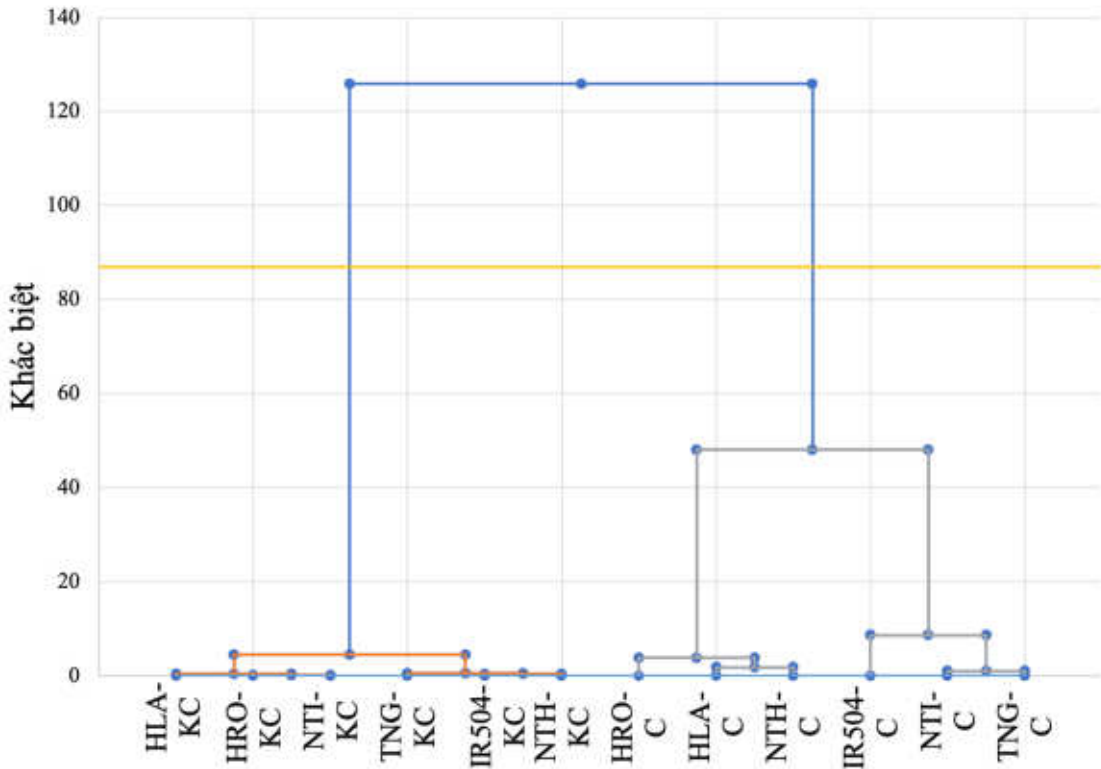
**Hình 3.13. Biểu đồ CA sự hiện diện nhóm chất theo giống lúa và điều kiện che sáng**

#### **Phân tích cụm (Dendrogram) và biểu đồ nhiệt (Heatmap)**

Biểu đồ dendrogram (Hình 3.14) phản ánh mối quan hệ tương đồng về thành phần hợp chất giữa các mẫu lúa dưới điều kiện có che sáng (C) và không che sáng (KC).

Các mẫu không che sáng (KC) có xu hướng phân cụm thành một nhánh riêng biệt, bao gồm IR504-KC, NTI-KC, HRO-KC, HLA-KC, TNG-KC và NTH-

KC. Điều này thể hiện sự đồng nhất trong mẫu không che sáng về mặt sinh tổng hợp hợp chất. Các mẫu có che sáng (C), cụ thể là IR504-C, NTI-C và TNG-C, tạo thành một cụm riêng, thể hiện đặc điểm chuyển hóa khác biệt so với nhóm không che sáng. Mẫu NTH-C và HRO-C đứng gần ranh giới phân cụm, phản ánh mức độ tương đồng trung gian giữa hai điều kiện chiếu sáng ở những giống này.



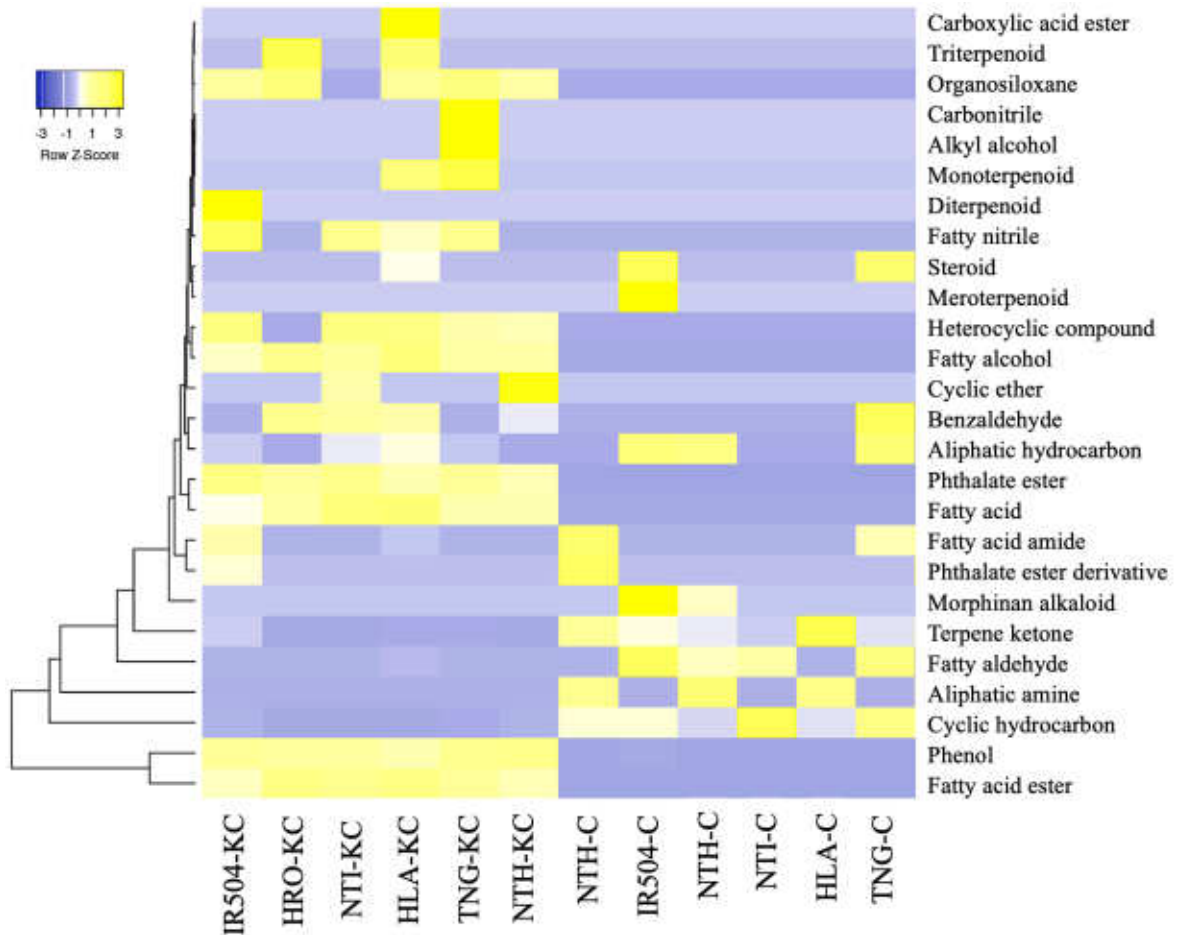
**Hình 3.14. Biểu đồ dendrogram về sự khác biệt trong biểu hiện nhóm chất của sáu giống lúa theo điều kiện che sáng**

*Ghi chú: C = điều kiện che sáng 2 lớp lưới; KC = điều kiện không che sáng.*

Biểu đồ heatmap (Hình 3.15) thể hiện phân bố cường độ biểu hiện của 26 nhóm hợp chất thực vật trong lá lúa, so sánh giữa các giống và hai điều kiện chiếu sáng. Một số xu hướng nổi bật được ghi nhận như sau: Các nhóm hợp chất như fatty acid ester, fatty acid amide, terpene ketone, phthalate ester, triterpenoid và monoterpene có xu hướng tăng cường biểu hiện trong điều kiện che sáng. Đây là các hợp chất đặc trưng cho phản ứng thích nghi với điều kiện thiếu ánh sáng. Ngược lại, meroterpenoid, phenol, heterocyclic compound, steroid và carbonitrile biểu hiện mạnh hơn ở nhóm không che sáng, điều này có nghĩa ánh sáng đầy đủ thúc đẩy sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học cao. Một số hợp chất như alkyl alcohol, cyclic ether, organosiloxane và morphinan alkaloid có mức biểu hiện phân tán, không hình thành xu hướng rõ rệt theo điều kiện chiếu sáng,

cho thấy các hợp chất này có thể phụ thuộc mạnh vào yếu tố giống lúa hơn là điều kiện môi trường.

Tổng thể, biểu đồ heatmap củng cố kết quả dendrogram, xác nhận rằng điều kiện chiếu sáng định hình rõ rệt mô hình tổng hợp hợp chất thực vật trong lá của các giống lúa khảo sát.



**Hình 3.15. Biểu đồ heatmap về sự khác biệt trong biểu hiện nhóm chất của sáu giống lúa theo điều kiện che sáng**

*Ghi chú: C = điều kiện che sáng 2 lớp lưới; KC = điều kiện không che sáng.*

Như vậy, lá lúa trong điều kiện không che sáng sinh tổng hợp mạnh các nhóm hợp chất như diterpenoid, phenol, steroid, meroterpenoid, và phthalate ester, trong khi hàm lượng fatty acid ester lại thấp hơn. Ngược lại, dưới điều kiện che sáng, lá lúa tăng cường tổng hợp fatty acid ester, aliphatic hydrocarbon, triterpenoid, và alkaloid, cho thấy cơ chế chuyển hướng chuyển hóa thích nghi với môi trường thiếu ánh sáng. Như vậy, điều kiện ánh sáng là yếu tố phân hóa rõ rệt trong mô hình tổng hợp các hợp chất thực vật của lá lúa.

### **3.1.2.3. *Đánh giá ảnh hưởng thời gian sinh trưởng và điều kiện che phủ ánh sáng đến sinh tổng hợp các hợp chất trong lá lúa non***

Sự tích lũy và chuyển hóa các hợp chất thứ cấp trong cây trồng chịu ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường và giai đoạn sinh trưởng. Trong nghiên cứu này, việc phân tích phổ GC-MS được thực hiện nhằm đánh giá sự biến đổi của các hợp chất thực vật trong lá lúa dưới tác động kết hợp của hai yếu tố: (i) thời gian sinh trưởng (tuần 1, 3 và 5) và (ii) điều kiện chiếu sáng (không che phủ ánh sáng và che phủ bằng hai lớp lưới). Kết quả GC-MS đã xác định và phân nhóm nhiều hợp chất thuộc các nhóm hóa học khác nhau như: diterpenoid, sterol, fatty acid ester, phenol, meroterpenoid và heterocyclic compound.

Phân tích thống kê đa biến (PCA, CA và AHC) cho thấy thời gian sinh trưởng và điều kiện chiếu sáng là hai yếu tố then chốt quyết định đến sự biến thiên về số lượng và thành phần hợp chất thực vật. Cụ thể:

- + Theo thời gian sinh trưởng, các nhóm hợp chất biến đổi theo hướng ngày càng đa dạng và phức tạp hơn ở tuần 5 so với tuần 1 và tuần 3, phản ánh nhu cầu trao đổi chất gia tăng khi cây bước vào giai đoạn sinh trưởng mạnh mẽ.

- + Theo điều kiện chiếu sáng, sự hiện diện và hàm lượng các nhóm chất thay đổi rõ rệt, điều này phản ứng thích nghi chuyển hóa của cây lúa với cường độ ánh sáng.

Căn cứ vào sự thay đổi thành phần nhóm chất theo thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng của các giống lúa, nghiên cứu đề xuất hai con đường biến dưỡng/trao đổi chất quan trọng trong cây lúa giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng gồm: (1) con đường chuyển hóa chlorophyll và phytol theo thời gian sinh trưởng và (2) sự khác biệt về chuyển hóa các chất trong lá lúa theo điều kiện chiếu sáng.

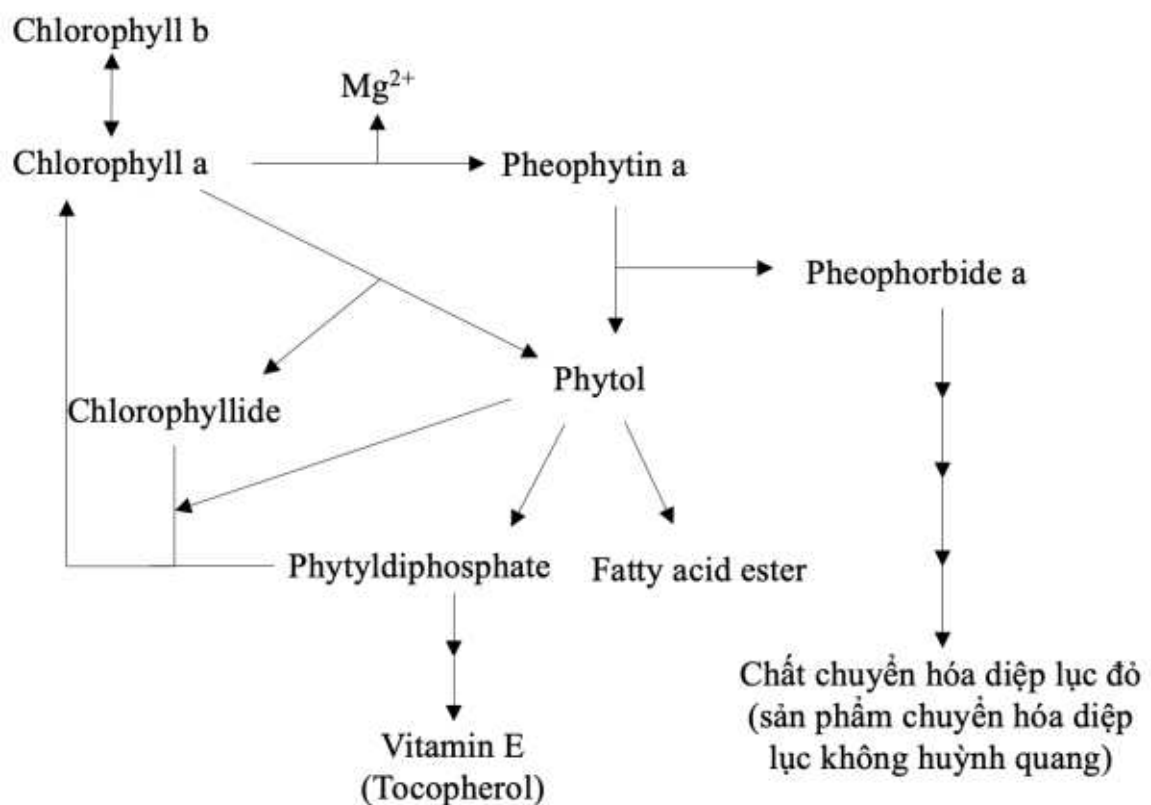
#### **\*\* *Con đường chuyển hoá của chlorophyll và phytol theo điều kiện sinh trưởng***

Kết quả phân tích GC-MS trên sáu giống lúa tại ba thời điểm sinh trưởng (tuần 1, tuần 3 và tuần 5) cho thấy phytol là một trong những hợp chất có tỷ lệ diện tích peak cao nhất ở tất cả các giống. Hàm lượng chlorophyll ở các giai đoạn này có tương quan chặt chẽ với hàm lượng phytol trong kết quả GC-MS, do phytol chính là thành phần cấu trúc cốt lõi của chlorophyll. Sự biến đổi hàm lượng phytol theo thời gian phản ánh quá trình thủy phân và tái sử dụng các thành phần chlorophyll nhằm đáp ứng nhu cầu phát triển của cây lúa [153].

Chlorophyll đóng vai trò trung tâm trong quá trình quang hợp, giúp hấp thụ ánh sáng mặt trời và chuyển hóa năng lượng [154]. Cấu trúc chlorophyll gồm nhóm porphyrin liên kết với phytol và ion maggesi ( $Mg^{2+}$ ). Hàm lượng chlorophyll

thường được dùng làm chỉ số đánh giá năng suất cây trồng, khả năng quang hợp, tình trạng dinh dưỡng đậm và sức khỏe cây [155].

Trong giai đoạn sinh dưỡng (tuần 1–5), cây lúa tăng cường quang hợp để phục vụ sinh trưởng lá, chồi và ngọn. Chlorophyll liên tục được tổng hợp nhưng đồng thời cũng bị thủy phân khi lá già hoặc tổn thương. Các sản phẩm thủy phân sẽ được tái sử dụng tổng hợp chlorophyll mới hoặc tham gia vào con đường chuyển hóa thứ cấp [156]. Quá trình phân hủy chlorophyll vừa giúp tái phân bổ nitrogen, vừa tránh tích lũy sản phẩm trung gian độc hại. Phytol là một sản phẩm thủy phân của chlorophyll, có thể được chuyển hóa thành vitamin E (tocopherol) hoặc fatty acid ester [157].



**Hình 3.16. Đề xuất con đường thủy phân chlorophyll và luân chuyển phytol trong lá lúa**

Đề xuất con đường thủy phân chlorophyll trong lá lúa dựa trên kết quả GC-MS của nghiên cứu và tham khảo từ nghiên cứu trên *Arabidopsis* [158] (Hình 3.16). Phytol được giải phóng từ chlorophyll, sau đó hoạt động như tiền chất tổng hợp vitamin E và fatty acid ester. Kết quả GC-MS đã xác nhận sự hiện diện của tocopherol và các fatty acid ester trong lá của cả sáu giống lúa.

**\*\* Sự khác biệt về chuyển hoá trong lá lúa theo điều kiện che phủ ánh sáng**

Dựa trên phân tích thành phần chính (PCA), lá của các giống lúa tích lũy nhiều diterpenoid, steroid và phthalate ester nhưng giảm hàm lượng fatty acid ester

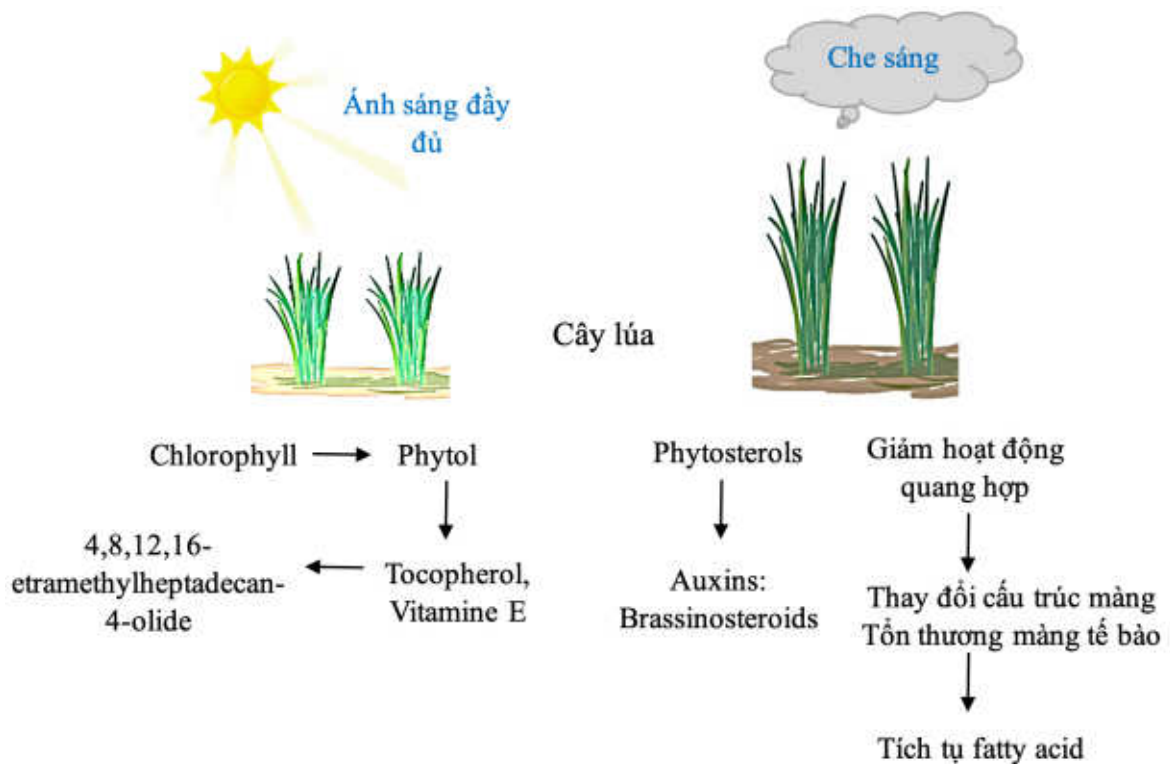
trong điều kiện không che phủ ánh sáng. Ngược lại, dưới điều kiện che phủ hai lớp lưới, cây lúa ưu tiên sinh tổng hợp fatty acid ester, aliphatic hydrocarbon, triterpenoid và dẫn xuất phthalate ester. Điều kiện không che phủ giúp cây lúa duy trì sự đa dạng hóa các nhóm hợp chất, trong khi điều kiện che phủ khiến cây tập trung vào một số nhóm hợp chất đặc thù. Những khác biệt này phản ánh vai trò quan trọng của các chất chuyển hóa trong cơ chế thích nghi sinh hóa của cây lúa dưới các điều kiện ánh sáng khác nhau. Cụ thể, trong điều kiện không che phủ, lá lúa tăng cường tích lũy phytosterol và diterpenoid nhưng giảm fatty acid ester; ngược lại, điều kiện che phủ thúc đẩy sự tích lũy fatty acid ester.

Dưới điều kiện ánh sáng đầy đủ, cây lúa thích nghi bằng cách tăng cường tổng hợp các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa như steroid, diterpenoid và vitamin E. Sự hiện diện của phytol, được giải phóng từ quá trình thủy phân chlorophyll dưới tác động của căng thẳng ánh sáng [158], là bằng chứng xác thực cho cơ chế này. Phytol đóng vai trò tiền chất trong con đường tổng hợp vitamin E. Ngoài ra, sản phẩm quang phân hủy của vitamin E là 4,8,12,16-tetramethylheptadecan-4-olide [159] cũng được phát hiện trong kết quả GC-MS, minh họa rõ ràng quá trình chuyển hóa này.

Ngược lại, dưới điều kiện che phủ ánh sáng, cây lúa phản ứng bằng cách tăng cường sinh tổng hợp fatty acid ester, bao gồm các hợp chất như methyl hexadecanoate, methyl 9-octadecenoate, methyl 14-methylpentadecanoate, ethyl oleate, ethyl dodecanoate và ethyl tetradecanoate. Các fatty acid và dẫn xuất của chúng không chỉ đóng vai trò điều chỉnh thành phần lipid màng tế bào và dự trữ năng lượng mà còn tham gia vào các con đường bảo vệ thực vật, tăng cường khả năng chống chịu với các căng thẳng sinh học và phi sinh học [160]. Môi trường thiếu ánh sáng dẫn đến giảm hiệu suất quang hợp, buộc cây điều chỉnh thành phần lipid màng để duy trì chức năng tế bào [161]. Đặc biệt, che phủ quá mức còn có thể gây ra quá trình peroxy hóa lipid, dẫn tới tổn thương màng sinh học [162]. Do đó, sự tích lũy fatty acid ester trong điều kiện che phủ được coi là tín hiệu phản ứng sinh học với căng thẳng ánh sáng yếu. Tương tự, các triacylglycerol (như methyl hexadecanoate và methyl octadecenoate) đã được chứng minh giúp cây tăng khả năng chịu bóng kéo dài [163].

Sterol, tiền chất của các hormone thực vật, đóng vai trò thiết yếu trong sinh trưởng và phát triển [164]. Trong điều kiện không che phủ, các sterol chính được ghi nhận bao gồm stigmasterol, stigmasterol 22,23-dihydro, androst-5,15-dien-3-ol acetate và spinasterone. Ngược lại, trong điều kiện che phủ, chỉ phát hiện

squalene, một chất trung gian trong con đường tổng hợp phytosterol [165]. Điều này cho thấy quá trình tổng hợp phytosterol bị gián đoạn, dẫn tới sự tích lũy squalene. Các phytosterol như stigmasterol, campesterol và  $\beta$ -sitosterol là tiền chất của brassinosteroid, nhóm hormone có vai trò điều hòa phân chia, kéo dài và biệt hóa tế bào, đồng thời tham gia phản ứng thích nghi với căng thẳng môi trường [166]. Nhiều nghiên cứu trên cây trà xanh và đậu xanh cũng đã chứng minh rằng brassinosteroid được tăng cường tổng hợp dưới điều kiện bóng râm, giúp cây mở rộng diện tích lá, thúc đẩy sinh trưởng và nâng cao khả năng chịu đựng ánh sáng yếu [167,168].



**Hình 3.17. Đề xuất con đường chuyển hóa của các hợp chất thứ cấp trong lá lúa dưới điều kiện che sáng và không che sáng**

Brassinosteroid còn tương tác với auxin để điều chỉnh sinh trưởng và phản ứng với các yếu tố căng thẳng [166]. Sự tương tác này thúc đẩy kéo dài cuống lá trong điều kiện bóng râm. Đồng thời, trong điều kiện thiếu ánh sáng, cây thường tăng cường tổng hợp auxin, dẫn đến kéo dài thân, lá và chồi, đồng thời làm giảm độ mở rộng của phiến lá [169,170]. Quan sát thực nghiệm trong nghiên cứu này cho thấy lá lúa trong điều kiện che phủ ánh sáng có thân kéo dài nhưng phiến lá hẹp hơn so với điều kiện không che phủ. Dữ liệu GC-MS cũng xác nhận sự tích lũy squalene mà không ghi nhận sterol trong điều kiện che phủ, gợi ý rằng sterol có thể đã chuyển hóa thành brassinosteroid và auxin. Mô tả đề xuất sự khác biệt

trong biểu hiện nhóm chất giữa điều kiện che sáng và không che sáng được trình bày trong hình 3.17.

Tóm lại, điều kiện ánh sáng khác nhau ảnh hưởng đáng kể đến sinh tổng hợp và chuyển hóa các hợp chất thực vật trong lá lúa. Cây lúa dưới ánh sáng đầy đủ ưu tiên tổng hợp các hợp chất chống oxy hóa như diterpenoid, steroid, vitamin E và phytosterol nhằm hỗ trợ sinh trưởng và bảo vệ màng tế bào. Ngược lại, trong điều kiện che phủ ánh sáng, cây lúa chuyển sang tích lũy fatty acid ester và brassinosteroid để thích nghi với giảm hiệu suất quang hợp và nguy cơ tổn thương màng. Sự khác biệt này phản ánh rõ cơ chế điều chỉnh chuyển hóa linh hoạt của cây lúa nhằm thích ứng với môi trường ánh sáng thay đổi.

Từ kết quả thí nghiệm khảo sát các điều kiện về giống lúa, thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng, tuần thứ năm trong điều kiện không che sáng được xác định là thời điểm thu hoạch tối ưu để thu nhận lá lúa non có hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất, đặc biệt đối với giống IR504, là giống có hiệu suất tích lũy hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa nổi bật nên được lựa chọn làm nguồn nguyên liệu chuẩn cho các thí nghiệm về quy trình chế biến, chiết tách và đánh giá tác động sinh học.

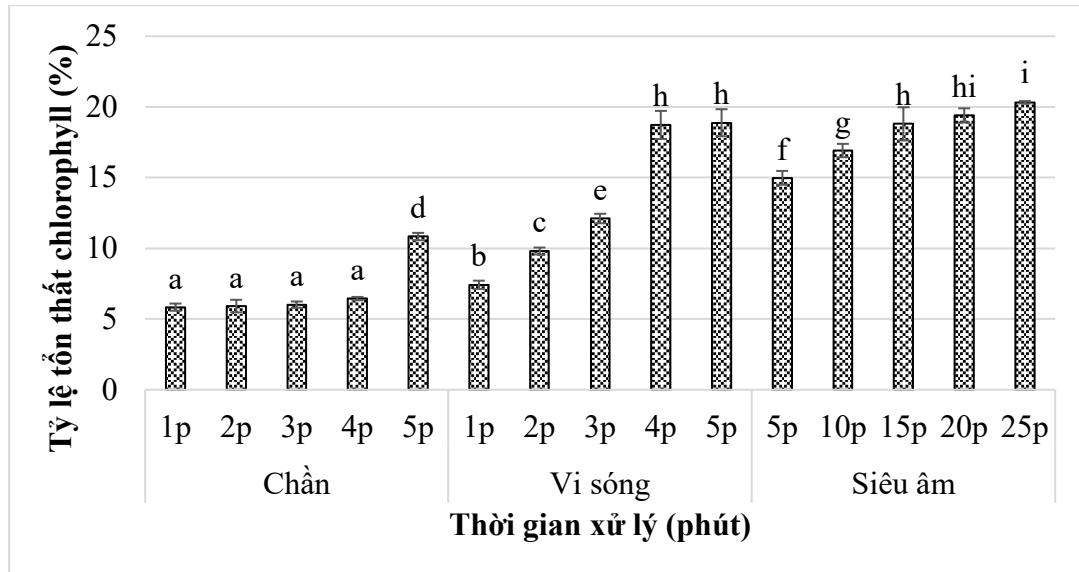
### **3.2. Khảo sát các điều kiện tối ưu trong thu nhận BLL**

#### **3.2.1. Phương pháp bất hoạt enzyme polyphenol oxidase**

##### **3.2.1.1. Ảnh hưởng phương pháp bất hoạt enzyme đến tổn thất hàm lượng chlorophyll trong lá lúa**

Tỷ lệ tổn thất chlorophyll trong lá lúa phụ thuộc đáng kể vào phương pháp và thời gian xử lý (Hình 3.18). Trong phương pháp chân nhiệt, tỷ lệ tổn thất chlorophyll dao động từ 5–6% trong 4 phút đầu, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các thời điểm 1, 2, 3 và 4 phút ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, sau 5 phút, tỷ lệ tổn thất tăng lên 10%, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các thời gian xử lý dưới 4 phút ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.2.1).

Phương pháp vi sóng và siêu âm gây tổn thất chlorophyll cao hơn đáng kể so với chân nhiệt. Xử lý bằng vi sóng trong 1–3 phút ghi nhận tỷ lệ tổn thất từ 7–12%, tăng lên 18% sau 4–5 phút. Đối với siêu âm, tỷ lệ tổn thất dao động từ 15–20% trong khoảng thời gian 5–25 phút, cao gấp 3–4 lần so với chân nhiệt. Phân tích thống kê khẳng định rằng chân nhiệt gây tổn thất chlorophyll thấp hơn có ý nghĩa so với hai phương pháp còn lại ( $p < 0,05$ ). Do đó, chân nhiệt được xem là phương pháp tối ưu để bất hoạt enzyme PPO trong quá trình chế biến lá lúa, đảm bảo hạn chế tổn thất chlorophyll ở mức thấp nhất.



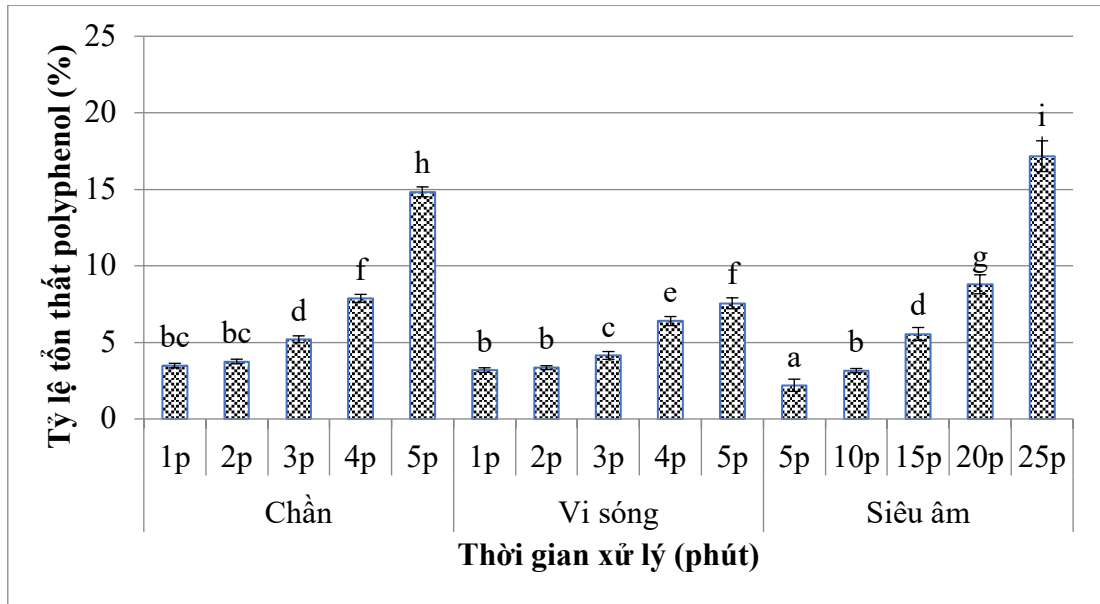
**Hình 3.18. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý (chần, vi sóng và siêu âm) đến tổn thất chlorophyll trong lá lúa**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các điều kiện xử lý ( $p < 0,05$ ).*

Tóm lại, chần nhiệt ở  $100^{\circ}\text{C}$  trong 4 phút là điều kiện tối ưu để bất hoạt enzyme PPO trong lá lúa, đồng thời hạn chế tổn thất chlorophyll ở mức thấp nhất so với vi sóng và siêu âm.

### **3.2.1.2. Ảnh hưởng phương pháp bất hoạt enzyme đến tổn thất hàm lượng polyphenol trong lá lúa**

Các phương pháp chần nhiệt, vi sóng và siêu âm đều tác động đến hàm lượng polyphenol tổng (Hình 3.19). Trong chần nhiệt, tỷ lệ tổn thất polyphenol dao động từ 3–5% trong 1–3 phút, tăng lên 8% sau 4 phút và đạt 15% sau 5 phút. Đối với siêu âm, tổn thất polyphenol không đáng kể (2–3%) trong 5–10 phút, nhưng tăng lên 17% sau 25 phút. Phương pháp vi sóng cho kết quả tổn thất thấp nhất, chỉ dưới 4% trong 3 phút đầu và khoảng 7% sau 4–5 phút.



**Hình 3.19. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý (chần, vi sóng và siêu âm) đến tổn thất polyphenol trong lá lúa**

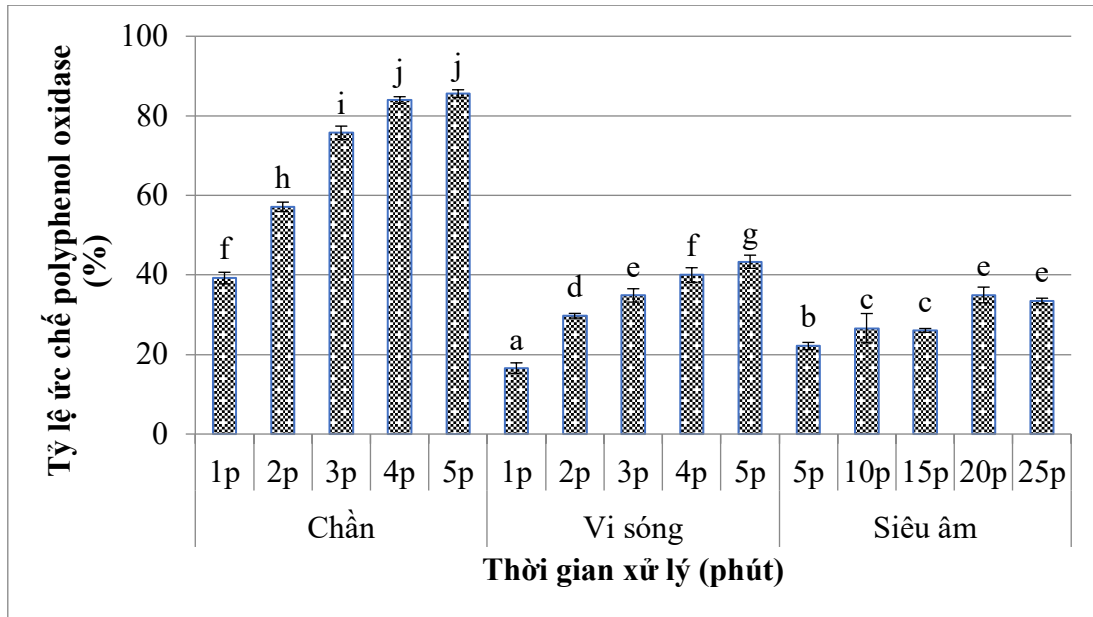
*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các điều kiện xử lý ( $p < 0,05$ ).*

Phân tích thống kê thể hiện chần nhiệt gây tổn thất polyphenol cao hơn so với vi sóng và siêu âm ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.2.2). Tuy nhiên, tổn thất polyphenol khi chần trong 3–4 phút không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với xử lý vi sóng 5 phút và siêu âm 15 phút ( $p > 0,05$ ).

### **3.2.1.3. Ảnh hưởng các điều kiện xử lý lên sự ức chế enzyme polyphenol oxidase**

Enzyme PPO xúc tác quá trình oxy hóa các hợp chất polyphenol, làm suy giảm các thành phần chống oxy hóa như polyphenol và chlorophyll trong quá trình chế biến. Việc bất hoạt enzyme này là cần thiết nhằm hạn chế tổn thất các hợp chất sinh học. Kết quả cho thấy chần nhiệt là phương pháp ức chế PPO hiệu quả nhất (Hình 3.20).

Chần nhiệt trong 1 phút bất hoạt khoảng 40% PPO, tăng lên trên 80% sau 4–5 phút. Trong khi đó, xử lý vi sóng trong 2–5 phút chỉ bất hoạt 30–42% PPO, còn siêu âm trong 5–25 phút đạt hiệu suất thấp hơn, chỉ 20–35%.



**Hình 3.20. Ảnh hưởng của điều kiện xử lý (chần, vi sóng và siêu âm) đến tỷ lệ ức chế enzyme polyphenol oxidase trong lá lúa**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các điều kiện xử lý ( $p < 0,05$ ).*

Phân tích thống kê xác nhận chần nhiệt cho hiệu quả bất hoạt PPO cao hơn rõ rệt so với vi sóng và siêu âm ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.2.3).

#### **3.2.1.4. Đánh giá ảnh hưởng các phương pháp xử lý đến chlorophyll, polyphenol và enzyme polyphenol oxidase**

Bất hoạt enzyme PPO là bước quan trọng nhằm kiểm soát quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic và đảm bảo chất lượng sản phẩm BLL. Chần nhiệt ở 100°C bất hoạt hơn 40% PPO sau 1 phút và đạt trên 80% sau 4–5 phút nhờ khả năng biến tính cấu trúc protein enzyme ở nhiệt độ cao.

Các nghiên cứu trước đó cũng ghi nhận hiệu quả tương tự: chần 2 phút ở 100°C giúp bất hoạt trên 90% PPO ở cây hương xuân (*Toona sinensis*) [171], gần 90% ở cần nước (*Oenanthe javanica*) trong 1–2 phút [172], và 70–90% ở rau diếp xoăn (*Cichorium intybus*) khi chần ở 80–90°C trong 2 phút [173]. Do lá lúa có cấu trúc phiến cứng và dai, thời gian và nhiệt độ xử lý cần cao hơn để đạt hiệu quả bất hoạt PPO. Ngoài ra, chần nhiệt còn giúp thanh trùng vi sinh vật, loại bỏ tạp chất và hạn chế nguy cơ suy giảm chất lượng do hoạt tính enzyme hoặc độc tính vi sinh [174].

Các nghiên cứu trước đây sử dụng phương pháp vi sóng và siêu âm trên các loài thực vật khác cũng cho hiệu quả cao trong bất hoạt enzyme: Phương pháp vi sóng (600W, 1–2 phút) bất hoạt khoảng 75–80% PPO trên cần nước [172], và siêu

âm (20–50 kHz) cũng cho kết quả tốt trên lá cà phê [175]. Các nghiên cứu này cho thấy cơ chế chính của sự thay đổi hàm lượng chlorophyll và polyphenol có thể liên quan đến quá trình phá vỡ cấu trúc tế bào lá và bất hoạt enzyme PPO. Sự gia tăng hiệu suất chiết tách khi xử lý siêu âm có thể do hiệu ứng xâm thực (cavitation) tạo vi khe nứt trong mô lá, hỗ trợ giải phóng hợp chất hòa tan. Ở điều kiện vi sóng, năng lượng nhiệt nội sinh giúp chiết tách nhanh nhưng dễ gây phân hủy hợp chất nhạy nhiệt ở thời gian xử lý dài. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, vi sóng và siêu âm cho hiệu quả bất hoạt PPO thấp hơn so với chần nhiệt.

Mặc dù chần nhiệt gây tổn thất chlorophyll và polyphenol cao hơn, nhưng khả năng bất hoạt PPO vượt trội giúp hạn chế tổn thất trong các giai đoạn chế biến tiếp theo. Nghiên cứu trên lá bạc hà thể hiện chần nhiệt trước sấy phun giúp bảo toàn chlorophyll, carotenoid và polyphenol nhờ bất hoạt hiệu quả các enzyme oxy hóa [176].

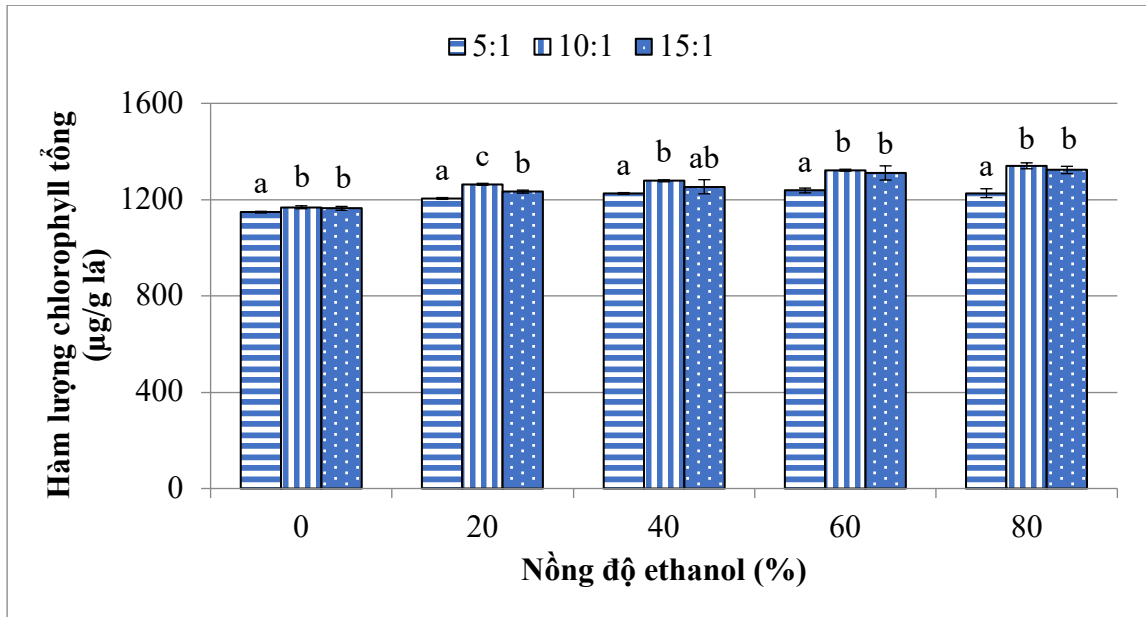
Vì vậy, chần nhiệt ở 100°C trong 4 phút được xác định là phương pháp tối ưu, đạt hiệu suất bất hoạt PPO trên 80%, đồng thời bảo toàn tối đa hàm lượng chlorophyll và polyphenol trong lá lúa non.

### **3.2.2. Ảnh hưởng tỷ lệ và nồng độ ethanol đến chiết xuất các hợp chất trong lá lúa non**

#### **3.2.2.1. Ảnh hưởng tỷ lệ và nồng độ ethanol đến chiết xuất chlorophyll**

Kết quả cho thấy hàm lượng chlorophyll tổng tăng dần khi nồng độ ethanol tăng (Hình 3.21). Ethanol cho hiệu suất chiết xuất chlorophyll cao hơn nước, đặc biệt ở nồng độ 60% và 80%, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nồng độ khác ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.2.4).

Về tỷ lệ dung môi: lá lúa non, tỷ lệ 5:1 ghi nhận hàm lượng chlorophyll thấp hơn đáng kể so với 10:1 và 15:1. Mức chlorophyll cao nhất (1238,07  $\mu\text{g/g}$ ) thu được tại nồng độ ethanol 60% với tỷ lệ 5:1. Tuy nhiên, tỷ lệ 10:1 cho hiệu quả chiết xuất cao hơn và ổn định hơn trong các điều kiện, với hàm lượng chlorophyll dao động từ 1310–1340  $\mu\text{g/g}$  ở nồng độ ethanol 60–80%, không có khác biệt ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ 10:1 và 15:1 trong cùng điều kiện ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, tỷ lệ 10:1 cho hiệu quả chiết xuất cao nhất với sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.2.4).

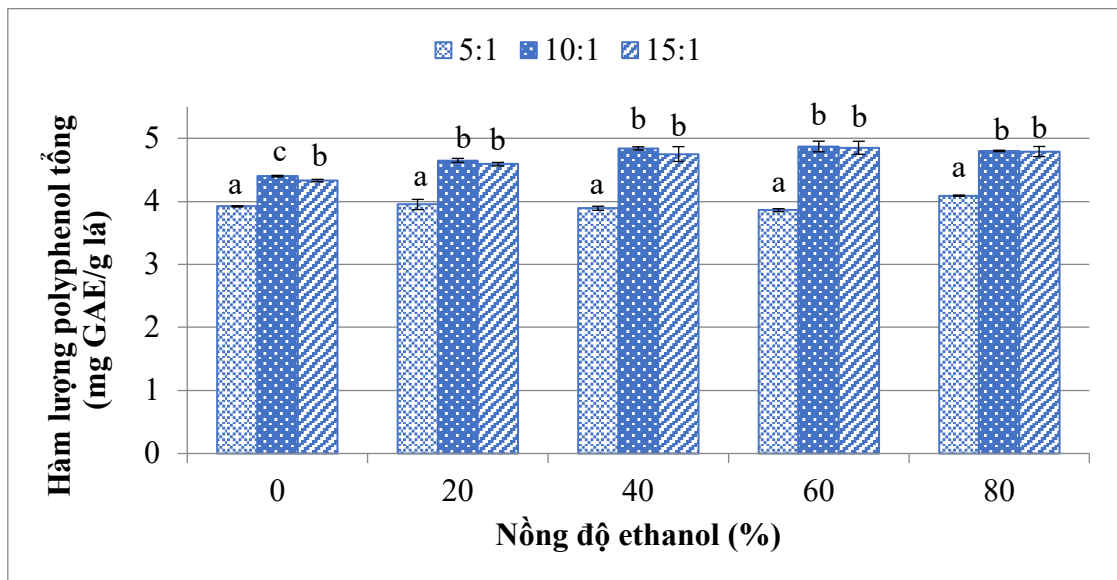


**Hình 3.21. Ảnh hưởng của tỷ lệ (dung môi: lá lúa non) và nồng độ ethanol đến quá trình chiết xuất chlorophyll**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các tỷ lệ ly trích ( $p < 0,05$ ).*

#### 3.2.2.2. Ảnh hưởng tỷ lệ và nồng độ ethanol đến chiết xuất polyphenol

Nồng độ và tỷ lệ ethanol đều ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng polyphenol chiết xuất được từ lá lúa (Hình 3.22).



**Hình 3.22. Ảnh hưởng của tỷ lệ (dung môi: lá lúa non) và nồng độ ethanol đến quá trình chiết xuất polyphenol**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các tỷ lệ ly trích ( $p < 0,05$ ).*

Hàm lượng polyphenol tổng chiết xuất bằng nước thấp hơn đáng kể so với ethanol ( $p < 0,05$ ). Ở tỷ lệ 5:1, polyphenol giảm nhẹ khi nồng độ ethanol tăng từ 20–60%, nhưng lại tăng ở nồng độ 80%. Trong khi đó, các tỷ lệ 10:1 và 15:1 ghi nhận xu hướng ngược lại: polyphenol tăng từ 20–60% ethanol và giảm nhẹ ở 80%. Sự khác biệt không ý nghĩa giữa các nồng độ 40%, 60% và 80% ethanol ( $p > 0,05$ ) (Bảng P1.2.5).

Tỷ lệ 5:1 cho hiệu suất chiết xuất polyphenol thấp hơn đáng kể so với 10:1 và 15:1. Hàm lượng polyphenol cao nhất đạt được ở tỷ lệ 10:1 với ethanol 60%, tương đương với tỷ lệ 15:1 ở cùng nồng độ. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai tỷ lệ này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng P1.2.5). Vì vậy, tỷ lệ 10:1 là tối ưu về cả hiệu quả chiết và tiết kiệm dung môi.

### **3.2.2.3. *Đánh giá ảnh hưởng dung môi ethanol đến chiết xuất chlorophyll và polyphenol***

Ethanol và nước là những dung môi phổ biến và an toàn, thường được sử dụng để chiết xuất chlorophyll và polyphenol từ nguồn nguyên liệu thực vật [177]. Ethanol được báo cáo cho hiệu quả chiết xuất các hợp chất sinh học cao hơn các dung môi khác như hexane, ethyl acetate, butanol và nước [7,8]. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy nồng độ ethanol ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng các hợp chất sinh học ( $p < 0,05$ ), trong đó ethanol 60–80% là tối ưu cho chiết xuất. Cụ thể, chlorophyll đạt cao nhất ở 80%, còn polyphenol ở 60%; tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai nồng độ này không có ý nghĩa thống kê. Ethanol 60% cho hiệu quả chiết tối ưu nhờ khả năng hòa tan tốt các hợp chất phenolic có phân cực trung bình. Kết quả này phù hợp với xu hướng chung của các nghiên cứu trên nguyên liệu lá xanh khác [177].

Tỷ lệ dung môi:lá lúa 10:1 được xác định là tối ưu. Tỷ lệ 5:1 tạo hỗn hợp quá đặc, làm giảm tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu, từ đó hạn chế hiệu suất chiết. Trong khi đó, tỷ lệ 15:1 mặc dù cho hiệu suất cao, nhưng không khác biệt có ý nghĩa so với 10:1 và làm tăng chi phí dung môi. Một nghiên cứu trên lá *Malva parviflora* đề xuất tỷ lệ 20:1 là tối ưu [178]. Vì vậy, tỷ lệ ly trích có thể phụ thuộc vào từng loại nguyên liệu thực vật.

Hiệu quả chiết xuất còn bị chi phối bởi độ phân cực của dung môi và đặc tính của nguyên liệu [179]. Để tối ưu hóa quá trình chiết các hợp chất chống oxy hóa, cần bổ sung khảo sát về nhiệt độ và thời gian xử lý.

Kết quả nghiên cứu đã xác định ethanol 60% kết hợp với tỷ lệ dung môi:lá lúa 10:1 là điều kiện chiết xuất tối ưu, đảm bảo thu được hàm lượng chlorophyll và polyphenol cao với hoạt tính sinh học đáng kể.

### 3.2.3. Ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun đến chất lượng của BLL

#### 3.2.3.1. Ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun đến hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính bắt gốc tự do (DPPH) của BLL

Nhiệt độ sấy phun ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa của BLL. Thí nghiệm được thực hiện ở các mức nhiệt 110°C, 120°C, 130°C, 140°C, 150°C và 160°C, trong đó mẫu sấy đông khô được sử dụng làm đối chứng (Hình 3.23).



**Hình 3.23. Bột lá lúa sau sấy phun và sấy đông khô (đối chứng)**

Hàm lượng chlorophyll tổng, chlorophyll a và chlorophyll b có xu hướng giảm khi nhiệt độ tăng (Bảng 3.7). Ở các mức 120°C và 130°C, hàm lượng chlorophyll tổng được duy trì tương đối cao, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các mức nhiệt cao hơn (Bảng P1.2.6).

Hàm lượng chlorophyll a bị suy giảm đáng kể ngay từ 120°C, chỉ còn khoảng 77% so với giá trị ban đầu (606,65  $\mu\text{g/g}$  xuống còn 471,68  $\mu\text{g/g}$ ,  $p < 0,05$ ; Bảng P1.2.7). Trong khi đó, chlorophyll b ổn định hơn ở 120–130°C ( $p > 0,05$ ; Bảng P1.2.8), nhưng giảm mạnh ở 160°C. Mẫu sấy ở 110°C bị vón cục, không khô hoàn toàn nên không được phân tích.

**Bảng 3.7. Hàm lượng chlorophyll tổng, chlorophyll a, chlorophyll b của BLL theo nhiệt độ sấy phun**

| Phương pháp sấy | Chlorophyll tổng ( $\mu\text{g/g}$ ) | Chlorophyll a ( $\mu\text{g/g}$ ) | Chlorophyll b ( $\mu\text{g/g}$ ) |
|-----------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Trước SP        | 1480,16 <sup>d</sup> ±12,56          | 606,65 <sup>e</sup> ±1,41         | 874,01 <sup>c</sup> ±11,93        |
| SP 110°C        | -                                    | -                                 | -                                 |
| SP 120°C        | <b>1309,15<sup>c</sup>±16,14</b>     | <b>471,68<sup>c</sup>±27,36</b>   | <b>837,94<sup>c</sup>±35,26</b>   |
| SP 130°C        | 1262,68 <sup>c</sup> ±4,19           | 427,46 <sup>b</sup> ±6,61         | 835,67 <sup>c</sup> ±7,20         |
| SP 140°C        | 1190,54 <sup>b</sup> ±7,93           | 451,50 <sup>bc</sup> ±12,94       | 739,45 <sup>b</sup> ±5,91         |
| SP 150°C        | 1148,77 <sup>b</sup> ±10,67          | 451,06 <sup>bc</sup> ±7,29        | 698,10 <sup>b</sup> ±3,46         |
| SP 160°C        | 921,80 <sup>a</sup> ±48,66           | 364,51 <sup>a</sup> ±18,26        | 557,61 <sup>a</sup> ±30,47        |
| Sấy ĐK          | 1427,87 <sup>d</sup> ±7,74           | 565,10 <sup>d</sup> ±1,86         | 863,26 <sup>c</sup> ±8,29         |
| CV%             | 1,40                                 | 2,49                              | 2,02                              |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  SD. Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một cột ( $p < 0,05$ ). (-) Sản phẩm sau sấy bị vón cục không khô. SP = Sấy phun. ĐK = Đông khô.*

**Bảng 3.8. Hàm lượng polyphenol, flavonoid, xơ tan và hoạt tính DPPH của BLL theo nhiệt độ sấy phun**

| Phương pháp sấy | Polyphenol tổng (mg GAE/g)   | Flavonoid tổng (mg QE/g)     | DPPH ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) | Xơ tan (mg/g)                    |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| Trước SP        | 4,26 <sup>f</sup> ±0,02      | 2,14 <sup>g</sup> ±0,01      | 3,05 <sup>g</sup> ±0,00       | 381,43 <sup>a</sup> ±89,92       |
| SP 110°C        | -                            | -                            | -                             | -                                |
| SP 120°C        | <b>3,34<sup>d</sup>±0,12</b> | <b>1,52<sup>e</sup>±0,03</b> | <b>2,22<sup>e</sup>±0,00</b>  | <b>499,32<sup>bc</sup>±10,32</b> |
| SP 130°C        | 2,47 <sup>c</sup> ±0,00      | 1,45 <sup>d</sup> ±0,03      | 1,42 <sup>d</sup> ±0,01       | 451,05 <sup>abc</sup> ±18,48     |
| SP 140°C        | 2,02 <sup>b</sup> ±0,00      | 1,37 <sup>c</sup> ±0,01      | 1,21 <sup>c</sup> ±0,00       | 442,43 <sup>ab</sup> ±14,24      |
| SP 150°C        | 1,85 <sup>b</sup> ±0,12      | 1,29 <sup>b</sup> ±0,05      | 1,04 <sup>b</sup> ±0,02       | 461,75 <sup>abc</sup> ±7,83      |
| SP 160°C        | 1,55 <sup>a</sup> ±0,03      | 0,96 <sup>a</sup> ±0,01      | 0,95 <sup>a</sup> ±0,04       | 461,26 <sup>abc</sup> ±18,53     |
| Sấy ĐK          | 3,65 <sup>e</sup> ±0,15      | 1,61 <sup>f</sup> ±0,02      | 2,28 <sup>f</sup> ±0,01       | 551,94 <sup>c</sup> ±15,33       |
| CV%             | 3,32                         | 1,63                         | 1,82                          | 5,92                             |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  SD. Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một cột ( $p < 0,05$ ). (-) Sản phẩm sau sấy bị vón cục không khô. SP = Sấy phun, ĐK = Đông khô, GAE = tương đương gallic acid, TE = tương đương Trolox.*

Về hàm lượng polyphenol, flavonoid, hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và xơ tan (Bảng 3.8), sấy phun ở 120°C cho giá trị polyphenol (3,34 mg GAE/g) và flavonoid (1,52 mg QE/g) cao nhất trong các mẫu sấy phun, thấp hơn mẫu sấy đông khô nhưng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức nhiệt cao hơn ( $p < 0,05$ ; Bảng P1.2.9 và P1.2.10). Hoạt tính DPPH đạt cao nhất ở mẫu sấy đông khô (3,05  $\mu\text{mol TE/g}$ ), tiếp đến là mẫu sấy ở 120°C (2,22  $\mu\text{mol TE/g}$ ), cho thấy ảnh hưởng tiêu cực của nhiệt độ cao đến khả năng bắt gốc tự do (Bảng P1.2.11). Hàm lượng xơ tan dao động không đáng kể giữa các điều kiện sấy ( $p > 0,05$ ; Bảng P1.2.12).

Tóm lại, sấy phun 120°C là điều kiện tối ưu, giúp giữ hàm lượng hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất so với các mức nhiệt sấy phun khác.

### 3.2.3.2. *Phân tích tương quan giữa các hợp chất và hoạt tính DPPH*

Để đánh giá mối liên hệ giữa hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa, phân tích tương quan Spearman được thực hiện trên các mẫu BLL sau sấy.

**Bảng 3.9. Hệ số tương quan Spearman (R) giữa các hợp chất và hoạt tính DPPH của BLL**

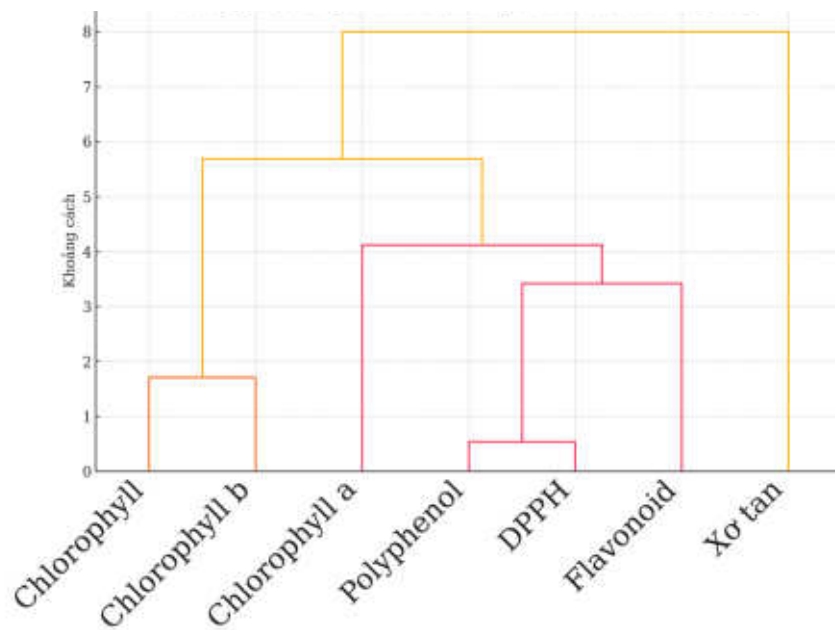
|        | Chlo                | Chlo a              | Chlo b              | Poly                | Flav                | DPPH                |
|--------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Chlo   | 1,000               |                     |                     |                     |                     |                     |
| Chlo a | 0,835*              | 1,000               |                     |                     |                     |                     |
| Chlo b | 0,969*              | 0,731*              | 1,000               |                     |                     |                     |
| Poly   | 0,981*              | 0,808*              | 0,957*              | 1,000               |                     |                     |
| Flav   | 0,984*              | 0,953*              | 0,953*              | 0,991*              | 1,000               |                     |
| DPPH   | 0,979*              | 0,829*              | 0,936*              | 0,977*              | 0,979*              | 1,000               |
| Xơ tan | 0,253 <sup>ns</sup> | 0,232 <sup>ns</sup> | 0,238 <sup>ns</sup> | 0,238 <sup>ns</sup> | 0,213 <sup>ns</sup> | 0,248 <sup>ns</sup> |

*Ghi chú: (\*): Mối tương quan có ý nghĩa thống kê  $p < 0,01$ . ns: Mối tương quan không có ý nghĩa thống kê  $p > 0,05$ . Chlo=Chlorophyll, Poly=Polyphenol, Flav=Flavonoid.*

Kết quả phân tích thống kê ghi nhận mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, với hệ số tương quan (R) lần lượt là 0,979 và 0,977 ( $p < 0,01$ ) (Bảng 3.9). Tương tự, hàm lượng flavonoid cũng thể hiện mối tương quan cao với hoạt tính DPPH ( $R = 0,979$ ;  $p < 0,01$ ). Hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b cũng có mối tương quan với hoạt tính DPPH, với R lần lượt là 0,829 và 0,936 ( $p < 0,01$ ). Tuy nhiên, không ghi

nhận mối tương quan giữa hàm lượng xơ tan và hoạt tính DPPH hoặc các hợp chất khác ( $p > 0,05$ ) (Bảng P1.2.13).

Kết quả phân tích cụm bằng phương pháp trung bình nhóm với khoảng cách Euclidean bình phương cho thấy polyphenol và DPPH có mức liên kết cao nhất, tiếp theo là flavonoid (Hình 3.24; Bảng P1.2.14). Chlorophyll tổng và chlorophyll b cũng có mối liên kết chặt hơn so với chlorophyll a. Xơ tan tách biệt hoàn toàn với các nhóm hợp chất sinh học khác, phù hợp với phân tích tương quan Spearman.



**Hình 3.24. Biểu đồ phân tích cụm giữa các giá trị của BLL**

Tóm lại, polyphenol và flavonoid có mối liên hệ chặt chẽ nhất với hoạt tính chống oxy hóa DPPH, tiếp theo là chlorophyll tổng và chlorophyll b, trong khi chlorophyll a tương quan thấp hơn và xơ tan không có mối tương quan đáng kể. Kết quả phân tích cụm phù hợp với tương quan Spearman, khẳng định vai trò chủ đạo của polyphenol và flavonoid trong khả năng khử gốc tự do.

### 3.2.3.3. *Đánh giá ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun đến chất lượng BLL*

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ sấy phun tăng cao dẫn đến suy giảm đáng kể các hợp chất polyphenol, flavonoid và chlorophyll. Điều này được lý giải bởi sự phân hủy nhiệt hoặc phản ứng oxy hóa – liên kết giữa các chất sinh học và những thành phần khác trong điều kiện nhiệt độ cao [180]. Các kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đó như trên bột lá ổi [181], bột lá sả [182], và trà xanh [183], trong đó các hợp chất phenolic bị suy giảm rõ rệt khi sấy ở nhiệt độ trên 140°C. Riêng chlorophyll dễ bị chuyển hóa thành pheophytin thông qua phản ứng thay thế ion  $Mg^{2+}$  bằng  $H^+$ , gây mất màu và giảm hoạt tính sinh học [184].

Trong nghiên cứu này, nhiệt độ 120°C được xác định là điều kiện tối ưu, bảo toàn hiệu quả các hợp chất chlorophyll, polyphenol và flavonoid, đồng thời duy trì hoạt tính DPPH ở mức cao trong BLL. So sánh với các nghiên cứu trước, nhiệt độ sấy phun tối ưu có sự khác biệt tùy thuộc vào loại nguyên liệu. Cụ thể, nghiên cứu trên bột lá sả ở nhiệt độ 130°C là phù hợp nhất để bảo toàn hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa [182], trong khi bột lá trà xanh đạt hàm lượng polyphenol cao nhất ở 140°C [183].

Sự suy giảm hàm lượng chlorophyll, polyphenol và flavonoid trong quá trình sấy được xem là nguyên nhân chính làm giảm hoạt tính DPPH. Nghiên cứu trên cây hương nhu (*Dracocephalum moldavica* L.) cũng cho thấy sấy phun ở nhiệt độ từ 150°C trở lên gây suy giảm đáng kể hoạt tính DPPH, chủ yếu do phân hủy các hợp chất phenolic và tăng cường phản ứng oxy hóa [185].

Phân tích cụm và tương quan Spearman đã khẳng định mối liên hệ chặt chẽ giữa các hợp chất này và hoạt tính chống oxy hóa, phù hợp với các nghiên cứu trước đó [186,187]. Polyphenol và flavonoid là những hợp chất đóng vai trò chính trong khả năng khử gốc tự do của BLL. Nhóm hợp chất này có cấu trúc giàu nhóm hydroxyl (-OH) dễ dàng cho và nhận electron, giúp trung hòa các gốc tự do DPPH thông qua cơ chế cho hydrogen hoặc chuyển electron. Điều này lý giải mối tương quan rất cao giữa hàm lượng các hợp chất này và hoạt tính bắt gốc DPPH. Trong khi đó, chlorophyll cũng có hoạt tính chống oxy hóa nhờ khả năng tạo phức với ion kim loại và khử các dạng oxy phản ứng, nhưng vai trò này yếu hơn so với polyphenol và flavonoid.

Ngược lại, hàm lượng xơ tan có xu hướng ổn định giữa các mức nhiệt độ và không liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa, do không có cấu trúc hóa học thuận lợi cho phản ứng bắt gốc tự do, phù hợp với các nghiên cứu trước đây về đặc tính sinh học của chất xơ. Tuy nhiên, nhiều công trình đã chỉ ra rằng xơ tan có thể tương tác với polyphenol qua liên kết hydro hoặc cộng hóa trị, giúp cải thiện độ ổn định và khả năng hấp thu của các hợp chất này [188].

Trong quá trình vi bao dịch chiết lá lúa, maltodextrin (MD) được sử dụng làm chất mang. MD là một polyglucosaccharide trơ về mặt sinh học (không chứa polyphenol), nên không ảnh hưởng đến hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm [81]. Vi bao bằng MD giúp bảo vệ các hợp chất phenolic khỏi phân hủy nhiệt trong quá trình sấy và nâng cao độ bền của sản phẩm trong bảo quản [189].

Mặc dù sấy đông khô bảo toàn hợp chất sinh học tốt hơn, nhưng chi phí và năng lượng tiêu thụ cao [190], không phù hợp cho sản xuất quy mô công nghiệp.

Trong khi đó, sấy phun ở 120°C cho sản phẩm bột có chất lượng cao, bảo toàn hoạt chất sinh học và phù hợp để ứng dụng trong ngành thực phẩm chức năng.

Ngoài ra, để hoàn thiện quy trình công nghệ, các chỉ tiêu công nghệ như hiệu suất thu hồi bột, độ ẩm, độ hòa tan và kích thước hạt cần được khảo sát chi tiết hơn trong các nghiên cứu tiếp theo, nhằm nâng cao tính ổn định, khả năng hòa tan và giá trị ứng dụng thực tiễn của sản phẩm bột lá lúa non.

Tóm lại, sấy phun ở 120°C là điều kiện tối ưu để thu nhận BLL, giúp bảo toàn tốt chlorophyll, polyphenol, flavonoid và duy trì hoạt tính chống oxy hóa, đồng thời tiết kiệm chi phí hơn so với sấy đông khô, phù hợp cho sản xuất quy mô công nghiệp.

### 3.2.4. Phân tích chất lượng BLL theo tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm

Kết quả phân tích chất lượng BLL không phát hiện sự hiện diện đáng kể của nấm mốc và các vi sinh vật gây bệnh phổ biến như *Escherichia coli*, *Coliforms* và *Bacillus cereus* (Bảng 3.10).

**Bảng 3.10. Phân tích chất lượng BLL**

| Chỉ tiêu phân tích     | Đơn vị | Bột lá lúa            | Giới hạn cho phép*<br>(46/2007/QĐ-BYT) |
|------------------------|--------|-----------------------|----------------------------------------|
| Tổng men, mốc          | CFU/g  | < 10                  | -                                      |
| <i>Clostridium</i>     | CFU/g  | < 10                  | -                                      |
| <i>perfringens</i>     |        |                       |                                        |
| <i>Coliforms</i>       | CFU/g  | < 10                  | -                                      |
| <i>E. coli</i>         | CFU/g  | < 10                  | -                                      |
| <i>Bacillus cereus</i> | CFU/g  | < 10                  | -                                      |
| Tổng VSV hiếu khí      | CFU/g  | 2,2 x 10 <sup>3</sup> | -                                      |
| Asen                   | mg/kg  | ND                    | 5                                      |
| Thủy ngân              | mg/kg  | ND                    | 0,5                                    |
| Chì                    | mg/kg  | ND                    | 10                                     |
| Kẽm                    | mg/kg  | ND                    | -                                      |
| Cadimi                 | mg/kg  | ND                    | 0,3                                    |
| Đồng                   | mg/kg  | ND                    | -                                      |
| Aflatoxin tổng số      | µg/kg  | ND                    | -                                      |
| Aflatoxin B            | µg/kg  | ND                    | -                                      |

\* (-) Không quy định.

Đồng thời, hàm lượng kim loại nặng gồm chì (Pb), asen (As), thủy ngân (Hg), kẽm (Zn) và cadimi (Cd) cũng như độc tố aflatoxin đều dưới ngưỡng phát

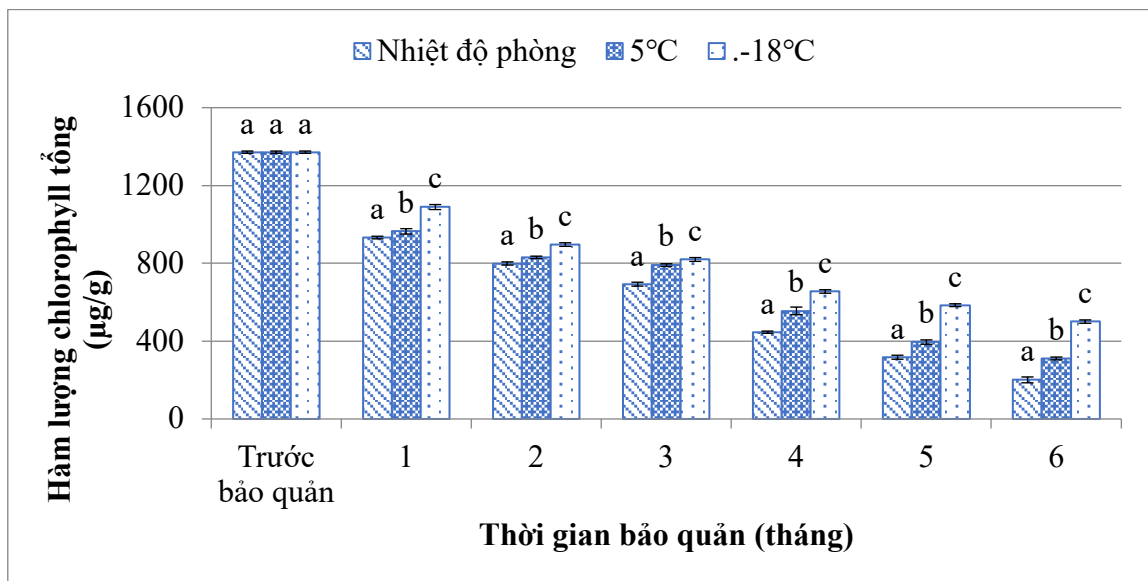
hiện. Các thông số này đều nằm trong giới hạn cho phép về ô nhiễm sinh học và hóa học theo quy định tại Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2007 của Bộ Y tế.

Như vậy, sản phẩm đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm và phù hợp để sử dụng làm nguyên liệu bổ sung trong chế biến thực phẩm chức năng.

### 3.2.5. Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian bảo quản đến chất lượng BLL

#### 3.2.5.1. Ảnh hưởng đến hàm lượng chlorophyll tổng

Hàm lượng chlorophyll tổng trong BLL giảm dần trong suốt thời gian 6 tháng bảo quản ở các điều kiện  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $5^\circ\text{C}$  và  $-18^\circ\text{C}$  (Hình 3.25). Sự suy giảm này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) từ tháng thứ nhất đến tháng thứ sáu (Bảng P1.2.15).



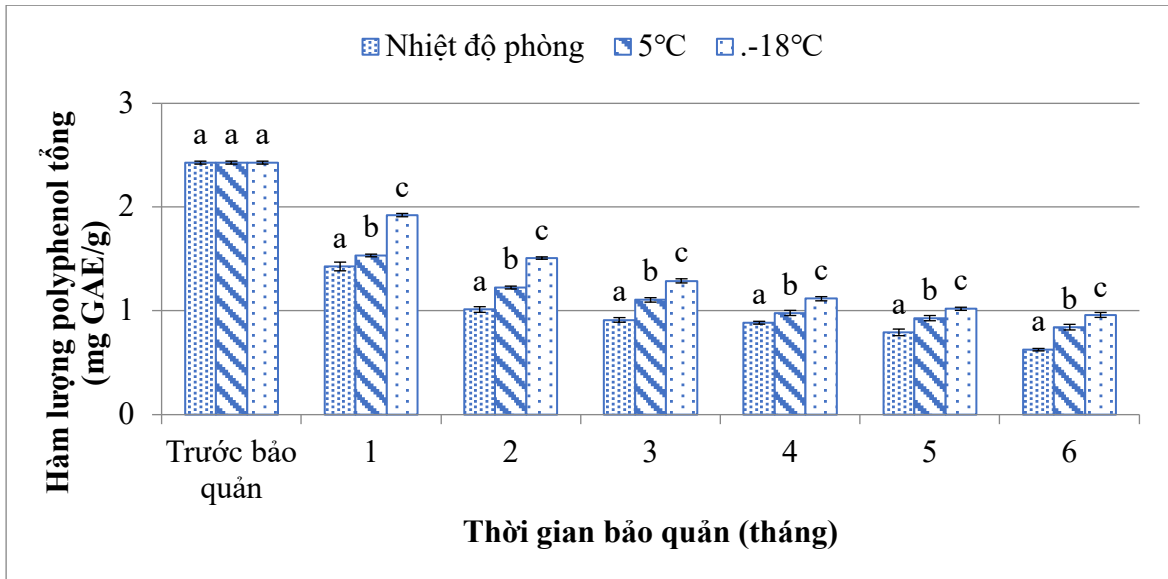
**Hình 3.25. Hàm lượng chlorophyll tổng trong BLL theo thời gian bảo quản**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một thời gian bảo quản ( $p < 0,05$ ).*

Trong ba điều kiện nghiên cứu, BLL bảo quản ở nhiệt độ phòng  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  dẫn đến sự suy giảm nhanh nhất, đặc biệt ở tháng thứ sáu, hàm lượng chlorophyll chỉ còn khoảng  $200 \mu\text{g/g}$ . Ngược lại, bảo quản ở  $-18^\circ\text{C}$  duy trì hàm lượng chlorophyll cao nhất trong toàn bộ thời gian, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các điều kiện còn lại ( $p < 0,05$ ). Bảo quản ở  $5^\circ\text{C}$  cũng giúp duy trì chlorophyll tốt hơn so với  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , nhưng kém hiệu quả hơn so với  $-18^\circ\text{C}$ .

#### 3.2.5.2. Ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng

Tương tự như chlorophyll, hàm lượng polyphenol tổng trong BLL cũng giảm dần qua 6 tháng bảo quản (Hình 3.26). Sự giảm này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) ở cả ba điều kiện bảo quản (Bảng P1.2.16).



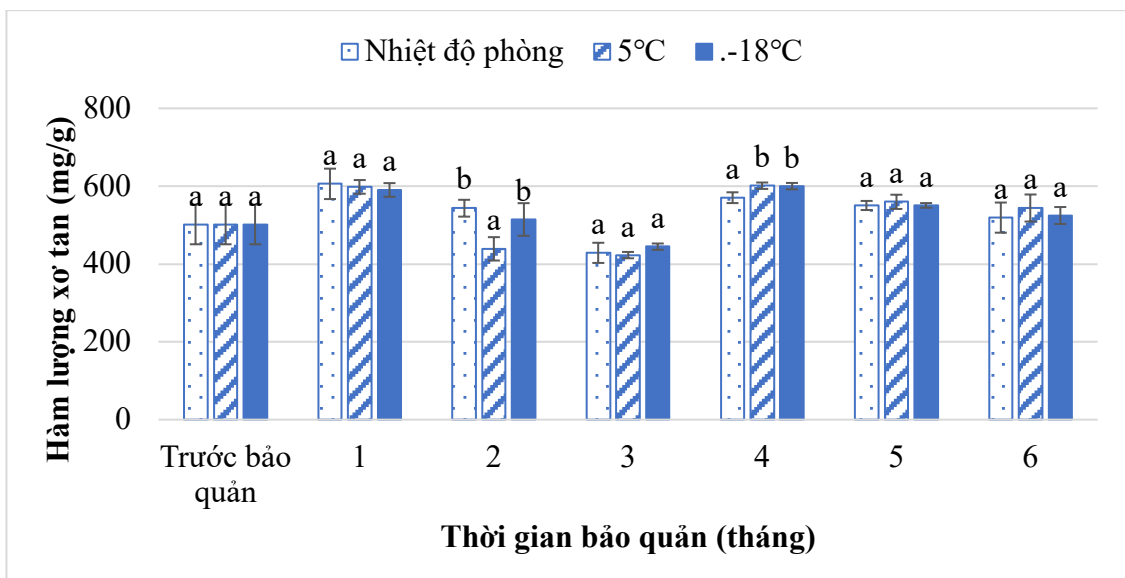
**Hình 3.26. Hàm lượng polyphenol tổng trong BLL theo thời gian bảo quản**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một thời gian bảo quản ( $p < 0,05$ ).*

Bảo quản ở nhiệt độ thấp cho hiệu quả tốt hơn trong bảo toàn polyphenol. Cụ thể, sau 1 tháng, hàm lượng polyphenol ở  $-18^{\circ}\text{C}$  đạt 1,92 mg GAE/g, cao hơn đáng kể so với 1,53 mg GAE/g ở  $5^{\circ}\text{C}$  và 1,43 mg GAE/g ở nhiệt độ phòng  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Xu hướng này được duy trì cho đến tháng thứ sáu, với các giá trị tại  $-18^{\circ}\text{C}$  vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với các điều kiện khác.

### 3.2.5.3. Ảnh hưởng đến hàm lượng xơ tan

Hàm lượng xơ tan dao động trong khoảng 500–545 mg/g và không ghi nhận sự thay đổi đáng kể sau 6 tháng bảo quản ở cả ba điều kiện (Hình 3.27).



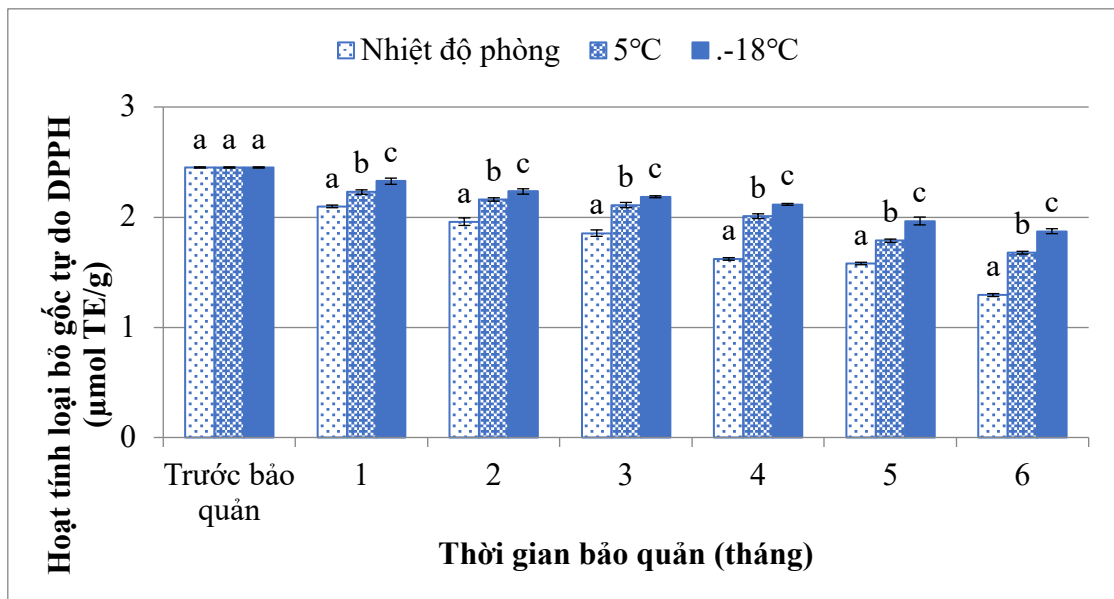
**Hình 3.27. Hàm lượng xơ tan trong BLL theo thời gian bảo quản**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một thời gian bảo quản ( $p < 0,05$ ).*

Mặc dù có sự biến động nhẹ theo thời gian – cao nhất ở tháng thứ nhất và thứ tư (570–605 mg/g) và thấp nhất ở tháng thứ ba (422–444 mg/g) – nhưng phân tích thống kê cho thấy sự khác biệt này không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) (Bảng P1.2.17). So sánh theo điều kiện bảo quản,  $-18^{\circ}\text{C}$  ghi nhận hàm lượng xơ tan cao hơn nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

#### 3.2.5.4. Ảnh hưởng đến hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa của BLL, được đo thông qua khả năng khử gốc tự do DPPH, cũng giảm dần theo thời gian bảo quản ở tất cả các điều kiện nhiệt độ (Hình 3.28). Trong 4 tháng đầu, hoạt tính DPPH giảm chậm hơn ở điều kiện  $5^{\circ}\text{C}$  và  $-18^{\circ}\text{C}$ , với giá trị lần lượt đạt  $2,01 \mu\text{mol TE/g}$  và  $2,12 \mu\text{mol TE/g}$  ở tháng thứ tư. Tuy nhiên, từ tháng thứ năm trở đi, mức suy giảm rõ rệt hơn, đặc biệt ở nhiệt độ phòng  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Phân tích thống kê xác nhận sự suy giảm này là có ý nghĩa ( $p<0,05$ ) (Bảng P1.2.18), trong đó hoạt tính DPPH ở điều kiện  $5^{\circ}\text{C}$  và  $-18^{\circ}\text{C}$  luôn cao hơn đáng kể so với nhiệt độ  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$  trong suốt thời gian bảo quản ( $p<0,05$ ).



**Hình 3.28. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của BLL theo thời gian bảo quản**

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đầu cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một thời gian bảo quản ( $p<0,05$ ).*

#### 3.2.5.5. Đánh giá ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian bảo quản lên chất lượng của BLL

Chất lượng của BLL có thể bị ảnh hưởng đáng kể trong quá trình bảo quản do các phản ứng phân hủy hóa học và enzyme. Việc xác định điều kiện bảo quản tối ưu là cần thiết nhằm duy trì ổn định các hợp chất sinh học và đáp ứng tiêu chuẩn thương mại hóa.

Chlorophyll là hợp chất dễ phân hủy bởi nhiệt, ánh sáng và enzyme chlorophyllase. Hai cơ chế phân hủy phổ biến gồm: (1) phản ứng thay thế ion  $Mg^{2+}$  bằng  $H^+$  tạo pheophytin, làm chuyển màu từ xanh lục sang nâu ô liu, và (2) sự thủy phân bởi enzyme chlorophyllase, tạo chlorophyllide và sau đó tiếp tục biến đổi thành pheophorbide dưới tác động nhiệt [184]. Các báo cáo trên bột thylakoid cũng xác nhận sự suy giảm chlorophyll do thủy phân enzyme và phân hủy hóa học trong suốt quá trình bảo quản [191]. Kết quả nghiên cứu hiện tại phù hợp với các báo cáo trên, khi chlorophyll giảm dần theo thời gian, đặc biệt là ở nhiệt độ cao.

Hàm lượng polyphenol tổng cũng suy giảm mạnh theo thời gian, chứng tỏ tính nhạy cảm cao của các hợp chất phenolic trong BLL. Trong một nghiên cứu trên quả *Myrica rubra*, anthocyanin bị phân hủy nhanh hơn so với các polyphenol khác [192]. Nguyên nhân chính là do hoạt động của enzyme PPO còn sót lại, xúc tác quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic thành quinon, dẫn đến đổi màu và suy giảm hoạt tính sinh học [193].

Hoạt tính DPPH của BLL phản ánh rõ rệt xu hướng suy giảm cùng với chlorophyll và polyphenol. Nghiên cứu trên bột trà xanh *Camellia sinensis* với hoạt tính DPPH và polyphenol giảm mạnh ở các điều kiện nhiệt độ cao chỉ sau hai tháng bảo quản [194]. Các hợp chất phenolic dễ bị thoái biến khi tiếp xúc lâu với nhiệt độ cao, làm giảm khả năng chống oxy hóa [194]. Trong khi đó, bảo quản lạnh, đặc biệt ở  $-18^{\circ}C$ , giúp duy trì hàm lượng hoạt chất và hoạt tính sinh học tốt hơn. Kết quả này tương đồng với báo cáo trên vi tảo *Arthrospira platensis* khi bảo quản đông lạnh duy trì tốt các hợp chất sinh học [186].

Mặc dù xơ tan không có thay đổi đáng kể trong suốt quá trình bảo quản, nhưng các nghiên cứu đã ghi nhận vai trò của xơ tan trong việc liên kết với polyphenol thông qua liên kết ether, ester hoặc hydro, đóng góp vào hoạt tính chống oxy hóa của thực phẩm [188]. Do đó, việc bảo toàn xơ tan là yếu tố có giá trị dinh dưỡng và chức năng.

Nhiệt độ bảo quản thấp, đặc biệt  $5^{\circ}C$  và  $-18^{\circ}C$ , giúp duy trì tốt hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của BLL, đồng thời giảm hoạt động của các enzyme chưa được bất hoạt hoàn toàn. Trong đó,  $-18^{\circ}C$  là điều kiện tối ưu để bảo quản BLL, đảm bảo chất lượng sản phẩm trong thời gian dài.

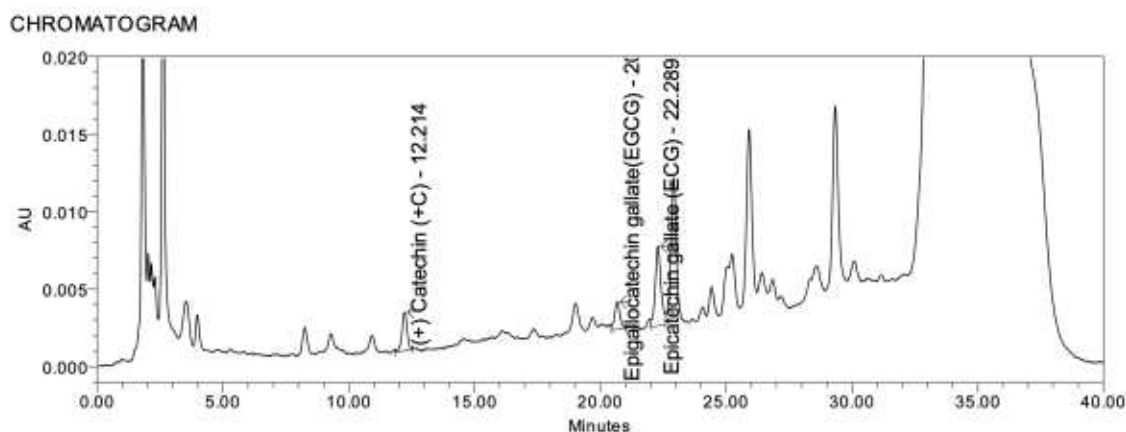
Tóm lại, quá trình sản xuất BLL được đề xuất bao gồm: thu hoạch lá lúa giống IR50404, chần trong 4 phút, chiết bằng dung môi ethanol 60% với tỷ lệ

DM:LL 10:1, sấy phun ở 120°C sử dụng MD 10% và bảo quản ở 5°C hoặc -18°C, nhằm tối ưu hóa chất lượng sản phẩm.

### 3.3. Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá của bột lá lúa non

#### 3.3.1. Phân tích HPLC xác định nhóm chất catechin

Mục tiêu của phân tích HPLC là để xác định thành phần hợp chất polyphenol đóng vai trò trong các hoạt tính sinh học của BLL. Dựa vào kết quả ở Hình 3.32, BLL chứa nhóm catechin gồm: Catechin (1,23 mg/L), epigallocatechin gallate (EGCG) (0,90 mg/L), và epicatechin gallate (ECG) (2,59 mg/L).



**Hình 3.29. Sắc ký đồ trong kết quả phân tích HPLC của BLL**

Các hợp chất này thuộc nhóm flavanol, đã được chứng minh có hoạt tính sinh học đa dạng như: chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, chống ung thư, chống dị ứng, chống đông máu, chống loét và kháng virus [195].

Trong đó, EGCG là hợp chất nổi bật nhất do chứa nhiều nhóm hydroxyl trong cấu trúc, giúp trung hòa các gốc tự do, tạo phức với kim loại và ức chế các enzyme gây viêm như cyclooxygenase và lipoxygenase [196]. Ngoài ra, EGCG còn được ghi nhận có khả năng điều hòa con đường tín hiệu NF- $\kappa$ B, từ đó làm giảm sản xuất các cytokine gây viêm [197]. ECG và catechin tuy có hoạt tính yếu hơn EGCG, nhưng vẫn tham gia vào các hiệu ứng sinh học thông qua cơ chế tương tự.

Các catechin không chỉ có tiềm năng ứng dụng trong y học, đặc biệt trong điều trị các bệnh lý như tim mạch, tiểu đường và ung thư nhờ khả năng bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa và tổn thương DNA [198], mà còn được sử dụng trong mỹ phẩm với vai trò chống lão hóa, bảo vệ da khỏi tác động của tia UV [199]. Sự hiện diện của các catechin trong BLL là cơ sở quan trọng để giải thích những tác động sinh học tiềm năng của BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột và sức khỏe vật chủ.

### 3.3.2. Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá của BLL

BLL ở các nồng độ từ 1% đến 10% (w/v) được phân tích về hàm lượng các chất bao gồm chlorophyll tổng, polyphenol tổng và xơ tan. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.11.

Hàm lượng chlorophyll tổng tăng dần theo nồng độ BLL. Ở nồng độ 1%, hàm lượng chlorophyll tổng thấp nhất, trong khi ở nồng độ 10%, hàm lượng đạt cao nhất, tăng khoảng 1,7 lần so với nồng độ 1%. Phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa về hàm lượng chlorophyll giữa các nồng độ BLL ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, giữa các nồng độ từ 2%-5% và 8%-9%, sự khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng P1.3.1).

Hàm lượng polyphenol tổng cũng tăng theo nồng độ BLL, với giá trị thấp nhất là 0,86 mg GAE/g ở nồng độ 1% và cao nhất là 1,96 mg GAE/g ở nồng độ 10%. Phân tích thống kê ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa về hàm lượng polyphenol tổng ở các nồng độ 1%, 2%, 6%, 9% và 10% ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.3.2).

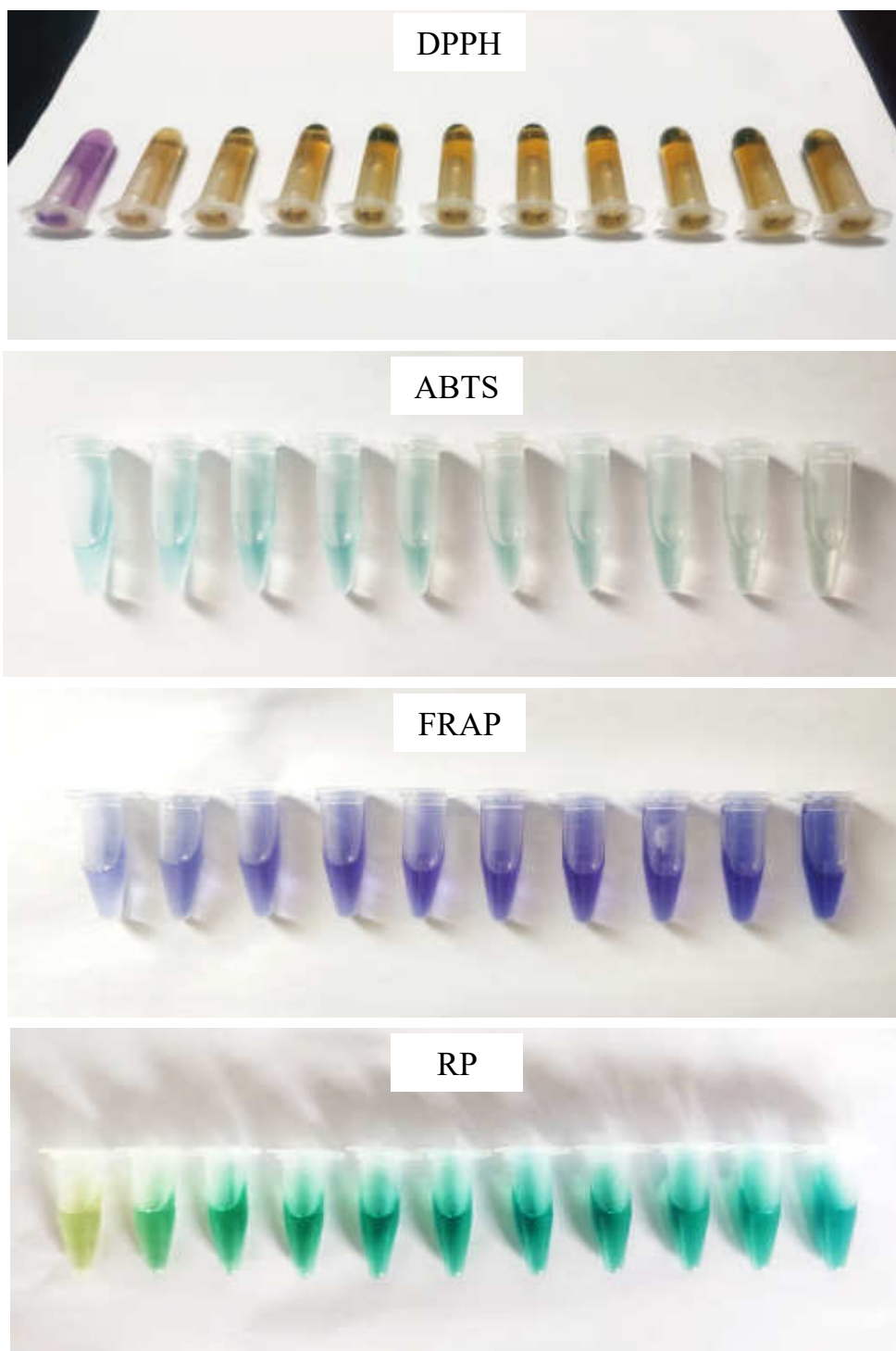
Khác với chlorophyll và polyphenol, hàm lượng xơ tan biến thiên không ổn định theo nồng độ BLL. Sự biến động này khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Bảng P1.3.3).

**Bảng 3.11. Hàm lượng chlorophyll, polyphenol và xơ tan trong BLL**

| Nồng độ BLL<br>(%) (w/v) | Chlorophyll<br>tổng* ( $\mu\text{g/g}$ ) | Polyphenol tổng*<br>(mg GAE/g) | Xơ tan <sup>ns</sup> (mg/g) |
|--------------------------|------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| 1                        | 491,83 <sup>a</sup> ±16,15               | 0,86 <sup>a</sup> ±0,04        | 590,72±73,08                |
| 2                        | 556,91 <sup>b</sup> ±10,24               | 1,03 <sup>b</sup> ±0,02        | 599,60±19,30                |
| 3                        | 606,47 <sup>bc</sup> ±13,53              | 1,11 <sup>bc</sup> ±0,01       | 599,75±27,52                |
| 4                        | 660,24 <sup>cd</sup> ±31,25              | 1,17 <sup>cd</sup> ±0,05       | 608,24±7,34                 |
| 5                        | 702,04 <sup>de</sup> ±12,97              | 1,24 <sup>de</sup> ±0,04       | 596,40±10,46                |
| 6                        | 734,12 <sup>e</sup> ±21,92               | 1,35 <sup>e</sup> ±0,07        | 603,40±13,16                |
| 7                        | 792,04 <sup>f</sup> ±4,67                | 1,45 <sup>f</sup> ±0,10        | 611,57±26,88                |
| 8                        | 805,42 <sup>fg</sup> ±36,49              | 1,54 <sup>f</sup> ±0,12        | 600,79±6,49                 |
| 9                        | 860,99 <sup>gh</sup> ±31,52              | 1,80 <sup>g</sup> ±0,03        | 625,21±7,88                 |
| 10                       | 868,47 <sup>h</sup> ±15,94               | 1,96 <sup>h</sup> ±0,03        | 630,21±3,01                 |
| CV%                      | 2,75                                     | 3,81                           | 3,25                        |

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình  $\pm$  SD. (\*): Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). ns: các giá trị trong cùng một cột khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). GAE = tương đương gallic acid.*

Hoạt tính chống oxy hóa của BLL được đánh giá thông qua giá trị  $IC_{50}$  trong các phép thử DPPH, ABTS, FRAP và RP, với vitamin C làm đối chứng (Hình 3.30 và Bảng 3.12).



**Hình 3.30. Thử nghiệm DPPH, ABTS, FRAP và RP theo nồng độ BLL**

Kết quả cho thấy BLL có khả năng khử gốc tự do nhưng hiệu lực thấp hơn đáng kể so với chất chuẩn Vitamin C. Trong thử nghiệm DPPH, BLL đạt giá trị  $IC_{50}$  ở nồng độ 45,69 mg/mL (tương đương 4,5% w/v), trong khi Vitamin C chỉ cần 6,12  $\mu$ g/mL để đạt hiệu quả tương đương. Tương tự, với thử nghiệm ABTS,

IC<sub>50</sub> của BLL là 80,9 mg/mL (8,1% w/v), cao hơn nhiều so với Vitamin C (87,72 µg/mL), cho thấy khả năng khử gốc ABTS của BLL kém hơn.

**Bảng 3.12. Phương trình hồi quy và IC<sub>50</sub> của BLL và vitamin C**

| Thử nghiệm | Mẫu       | Phương trình hồi quy                | R <sup>2</sup> | IC <sub>50</sub>   |
|------------|-----------|-------------------------------------|----------------|--------------------|
| DPPH       | Vitamin C | $y = 8,0377x + 0,8419$              | 0,995          | 6,12 µg/mL         |
|            | BLL       | $y = 0,5554x + 24,622$              | 0,789          | <b>45,69 mg/mL</b> |
| ABTS       | Vitamin C | $y = 1,1118x + 2,5817$              | 0,993          | 42,65 µg/mL        |
|            | BLL       | $y = 0,5624x + 4,5034$              | 0,987          | <b>80,90 mg/mL</b> |
| FRAP       | Vitamin C | $y = 2,0463x + 2,7414$              | 0,990          | 23,09 µg/mL        |
|            | BLL       | $y = -0,0076x^2 + 1,3736x + 9,8487$ | 0,951          | <b>36,67 mg/mL</b> |
| RP         | Vitamin C | $y = 0,0462x + 0,0187$              | 0,991          | 3,69 µg/mL         |
|            | BLL       | $y = -0,004x^2 + 1,0713x + 8,8369$  | 0,964          | <b>46,49 mg/mL</b> |

Ở phép thử khả năng khử sắt (FRAP), BLL có IC<sub>50</sub> là 36,67 mg/mL (3,7% w/v), vẫn cao hơn so với Vitamin C (23,09 µg/mL). Trong phép thử RP, IC<sub>50</sub> của BLL lên tới 46,49 mg/mL (4,6% w/v), trong khi Vitamin C chỉ cần 3,69 µg/mL. Điều này chứng minh BLL có khả năng tham gia phản ứng khử nhưng ở mức độ thấp hơn nhiều so với chất chống oxy hóa mạnh.

Nhìn chung, hàm lượng chlorophyll và polyphenol trong BLL tăng dần theo nồng độ, trong khi xơ tan không biến động có ý nghĩa thống kê. BLL thể hiện khả năng chống oxy hóa thông qua các phép thử DPPH, ABTS, FRAP và RP nhưng hiệu lực thấp hơn đáng kể so với vitamin C. Điều này cho thấy BLL có tiềm năng chống oxy hóa, chủ yếu nhờ các hợp chất chlorophyll và polyphenol, nhưng hoạt tính yếu hơn so với chất chống oxy hóa chuẩn.

### 3.3.3. Phân tích mối tương quan giữa thành phần hoá học và hoạt tính chống oxy hoá của BLL

Phân tích đa biến, bao gồm tương quan Spearman và phân tích cụm, được thực hiện để đánh giá mối quan hệ giữa hàm lượng hợp chất và hoạt tính chống oxy hóa của BLL (Bảng P1.3.4 và P1.3.5). Kết quả phân tích tương quan Spearman (Bảng 3.13) thể hiện mối liên hệ rõ rệt giữa hàm lượng các hợp chất sinh học và hoạt tính chống oxy hóa của BLL. Cụ thể, hàm lượng polyphenol thể hiện tương quan cao và có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ) với các chỉ số hoạt tính chống oxy hóa, bao gồm DPPH ( $R = 0,984$ ), ABTS ( $R = 0,971$ ), FRAP ( $R = 0,980$ ) và

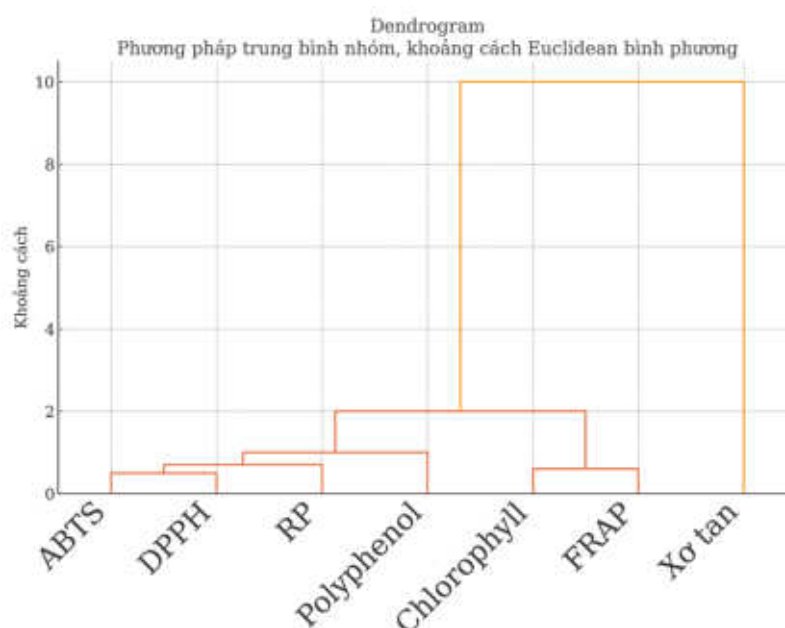
RP ( $R = 0,983$ ). Tương tự, hàm lượng chlorophyll cũng có mối tương quan chặt chẽ với DPPH ( $R = 0,965$ ), ABTS ( $R = 0,958$ ), FRAP ( $R = 0,952$ ) và RP ( $R = 0,972$ ) ( $p < 0,01$ ), chứng tỏ vai trò quan trọng của sắc tố này trong việc tham gia vào quá trình trung hòa gốc tự do và khử oxy hóa.

**Bảng 3.13. Hệ số tương quan Spearman (R) giữa các thông số của bột lá lúa**

|        | Chlo    | Poly          | Xơ tan  | DPPH   | ABTS   | FRAP   |
|--------|---------|---------------|---------|--------|--------|--------|
| Chlo   | 1,000   |               |         |        |        |        |
| Poly   | 0,967*  | 1,000         |         |        |        |        |
| Xơ tan | 0,393** | 0,429**       | 1,000   |        |        |        |
| DPPH   | 0,965*  | <b>0,984*</b> | 0,408** | 1,000  |        |        |
| ABTS   | 0,958*  | <b>0,971*</b> | 0,369** | 0,984* | 1,000  |        |
| FRAP   | 0,952*  | <b>0,980*</b> | 0,396** | 0,988* | 0,988* | 1,000  |
| RP     | 0,972*  | <b>0,983*</b> | 0,368** | 0,988* | 0,992* | 0,989* |

Ghi chú: (\*) Mối tương quan với ý nghĩa thống kê  $p < 0,01$ . (\*\*) Mối tương quan có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ . Chlo = Chlorophyll; Poly = Polyphenol.

Ngược lại, hàm lượng xơ tan chỉ thể hiện mối tương quan thấp với các phép thử chống oxy hóa, với hệ số R dao động từ 0,36 đến 0,41 ( $p < 0,05$ ), cho thấy chất xơ không đóng vai trò chính trong hoạt tính chống oxy hóa trực tiếp của BLL. Kết quả này gợi ý rằng polyphenol và chlorophyll là hai nhóm hợp chất góp phần chính vào tiềm năng chống oxy hóa, trong khi xơ tan chủ yếu hỗ trợ về mặt sinh lý đường ruột hơn là tham gia trực tiếp vào phản ứng khử gốc tự do.



**Hình 3.31. Biểu đồ phân tích cụm giữa các thông số của BLL**

Phân tích cụm sử dụng phương pháp trung bình nhóm với khoảng cách Euclidean bình phương cho thấy polyphenol nhóm cùng DPPH, ABTS, RP; trong khi chlorophyll gần với FRAP (Hình 3.31).

### 3.3.4. Đánh giá khả năng chống oxy hoá của BLL

Kết quả nghiên cứu ghi nhận BLL chứa hàm lượng đáng kể chlorophyll và polyphenol, đặc biệt là nhóm catechin – hợp chất then chốt đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính chống oxy hóa. Catechin và các dẫn xuất là nhóm flavonoid nổi bật có cơ chế chống oxy hóa thông qua khả năng cho proton hoặc electron để trung hòa gốc tự do, đồng thời tạo phức chelating với ion kim loại chuyển tiếp ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ), từ đó hạn chế phản ứng Fenton sinh ra gốc hydroxyl gây hại [195]. Ngoài ra, catechin còn có khả năng ổn định gốc tự do thông qua cộng hưởng electron trên vòng phenolic, làm giảm hoạt tính oxy hóa của các gốc tự do.

BLL có khả năng quét gốc tự do (DPPH, ABTS) và khả năng khử (FRAP, RP) nhưng giá trị  $\text{IC}_{50}$  cao hơn đáng kể so với chất chuẩn Vitamin C, phản ánh hoạt tính chống oxy hóa yếu hơn. Điều này được lý giải bởi hàm lượng polyphenol trong BLL thấp hơn so với các nguồn giàu chất chống oxy hóa khác, mặc dù vẫn có khả năng bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do stress oxy hóa. Kết quả cho thấy BLL có thể đóng vai trò như một nguồn chống oxy hóa hỗ trợ, đặc biệt khi kết hợp với các hợp chất có hoạt tính mạnh hơn trong công thức thực phẩm chức năng hoặc sản phẩm tăng cường sức khỏe.

So sánh với các sản phẩm bột thực vật khác, hoạt tính chống oxy hóa của BLL thấp hơn bột lá lúa mì ( $\text{IC}_{50}$  DPPH = 1,48 mg/g) [200], bột *Eugenia stipitata* qua sấy phun ( $\text{IC}_{50}$  DPPH = 3,6–4,5 mg/mL) [81], bột vỏ *Opuntia ficus* ( $\text{IC}_{50}$  DPPH = 0,41–1,25 mg/mL) [201] hay bột vỏ thanh long (*Hylocereus polyrhizus*) ( $\text{IC}_{50}$  DPPH = 11,44 mg GAE/100 mL) [202].

Phân tích đa biến xác nhận mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của BLL, tương đồng với các nghiên cứu trước đây. Ví dụ, Khanthapok và cs. (2015) ghi nhận tương quan giữa polyphenol và DPPH ( $R=0,784$ ;  $p<0,05$ ) và FRAP ( $R=0,880$ ;  $p<0,05$ ) trong dịch chiết lá lúa [26]. Nghiên cứu trên lá lúa mạch non cũng cho thấy tương quan giữa phenolic và DPPH ( $R=0,795$ ;  $p<0,05$ ) [203], trong khi lá non của ngô (*Zea mays* L.), lúa mì (*Triticum aestivum* L.) và lúa mạch (*Hordeum vulgare* L.) ghi nhận tương quan rất mạnh giữa polyphenol tổng và DPPH ( $R=0,968$ ;  $p<0,05$ ) [51]. Ngoài ra, xơ tan trong BLL tuy có tương quan yếu nhưng cũng góp phần vào hoạt tính chống oxy hóa thông qua liên kết hydro hoặc ether với polyphenol.

Như vậy, các hợp chất phenolic, đặc biệt catechin, đóng vai trò chính trong cơ chế khử gốc tự do và khử sắt của BLL. Điều này gợi ý rằng BLL vẫn là nguồn chống oxy hóa tự nhiên tiềm năng, đặc biệt khi được kết hợp hoặc tối ưu hàm lượng phenolic để nâng cao hiệu quả sinh học. Nghiên cứu này cũng là tiền đề về ghi nhận hoạt tính chống oxy hóa của BLL sau sấy phun, mở ra khả năng ứng dụng trong thực phẩm chức năng và sản phẩm bảo vệ sức khỏe.

### **3.4. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL**

#### **3.4.1. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL**

BLL được hòa tan trong DMSO 30%, với các nồng độ 500, 1.000, 2.000, 4.000 và 8.000  $\mu\text{g/mL}$  nhằm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* và kháng nấm *C. albicans*.

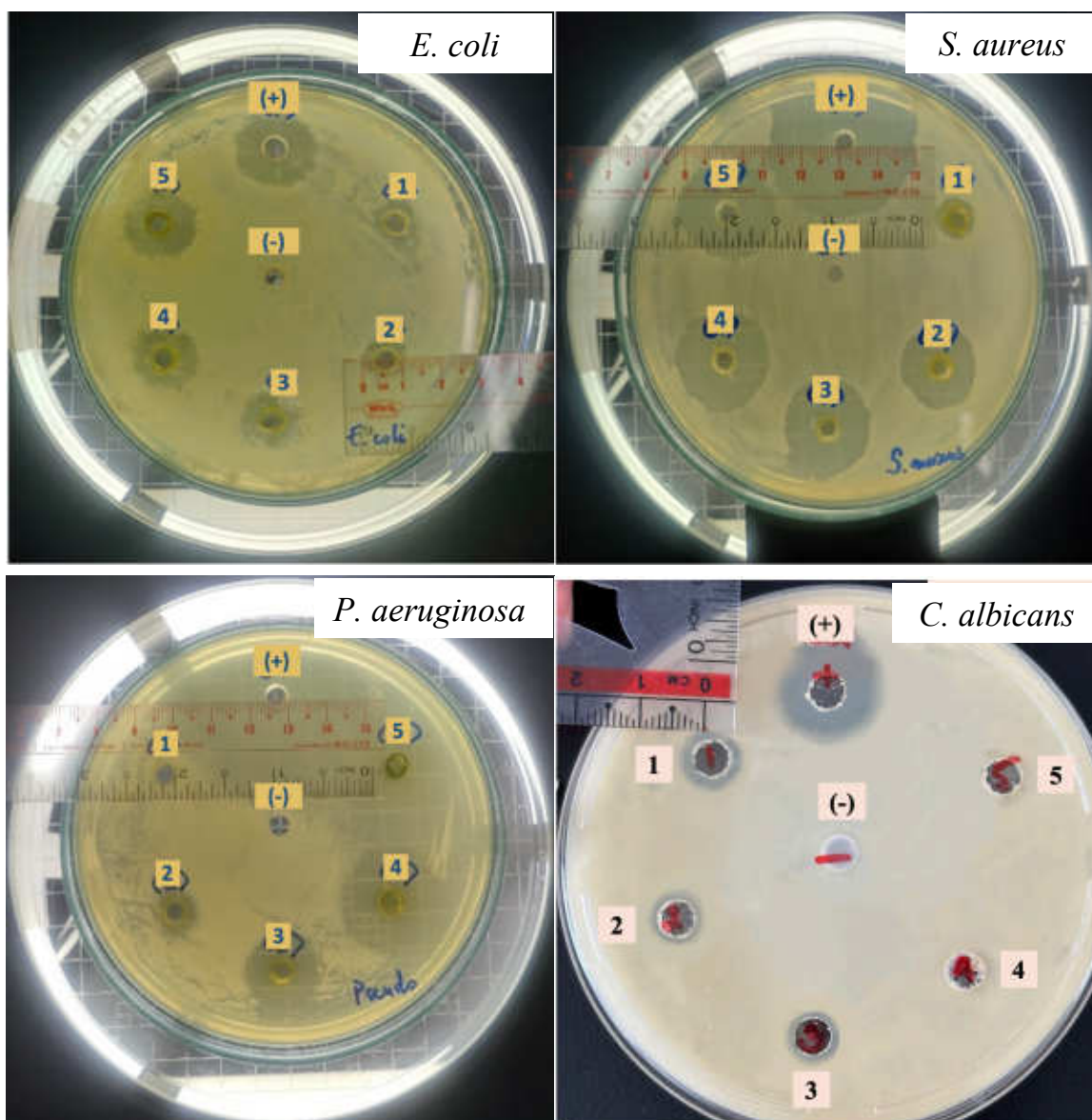
Phương pháp khuếch tán trên giếng thạch được sử dụng để đo đường kính vòng ức chế (IZ) sau 24 giờ ủ. Đồng thời, phương pháp pha loãng liên tiếp được áp dụng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC).

Kết quả khuếch tán trên giếng thạch (Bảng 3.14 và Hình 3.32) chứng minh BLL thể hiện hoạt tính kháng khuẩn phụ thuộc nồng độ đối với cả vi khuẩn Gram dương, Gram âm và hoạt tính kháng nấm yếu.

Đối với *S. aureus*, BLL tạo vòng ức chế từ  $5,33 \pm 0,58$  mm tại nồng độ 500  $\mu\text{g/mL}$  và đạt tối đa  $21,33 \pm 0,58$  mm ở 8.000  $\mu\text{g/mL}$ , cho thấy độ nhạy cảm cao nhất so với các chủng thử nghiệm ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.4.2).

*E. coli* cũng nhạy cảm tương đối, với đường kính ức chế tăng từ  $4,80 \pm 0,16$  mm tại 500  $\mu\text{g/mL}$  lên  $20,24 \pm 1,22$  mm ở 8.000  $\mu\text{g/mL}$  ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.4.3).

Đối với *P. aeruginosa*, BLL không tạo vòng ức chế ở 500  $\mu\text{g/mL}$ , nhưng ở các nồng độ từ 1.000–8.000  $\mu\text{g/mL}$  xuất hiện vòng ức chế từ  $3,67 \pm 0,15$  mm đến  $19,33 \pm 1,03$  mm ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.4.1).



**Hình 3.32. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch**

*Ghi chú: Nồng độ bột lá lúa 500 µg/mL (1), 1000 µg/mL (2), 2000 µg/mL (3), 4000 µg/mL (4) và 8000 µg/mL (5). ĐC âm (-): DMSO 30%. ĐC dương (+): Ampicillin (100 µg/mL).*

Trong khi đó, nấm *C. albicans* chỉ biểu hiện vòng ức chế nhỏ từ  $1,5 \pm 0,44$  mm đến  $5,0 \pm 0,50$  mm ở nồng độ 2.000–8.000 µg/mL và không ghi nhận hoạt tính ở 500 và 1.000 µg/mL ( $p < 0,05$ ) (Bảng P1.4.4), chứng tỏ BLL có tác dụng kháng nấm yếu. So sánh với đối chứng dương ampicillin (đối với vi khuẩn) và metronidazole (đối với nấm), BLL có hiệu lực kháng khuẩn thấp hơn đáng kể.

**Bảng 3.14. Đường kính vòng ức chế (mm) của BLL đối với vi khuẩn và nấm**

| Nồng độ<br>BLL<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Đường kính vòng ức chế (mm)   |                               |                               |                             |
|----------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                                        | <i>P. aeruginosa</i>          | <i>S. aureus</i>              | <i>E. coli</i>                | <i>C. albicans</i>          |
| 500                                    | 0                             | 5,33 <sup>a</sup> ±0,58       | 4,80 <sup>a</sup> ±0,16       | 0                           |
| 1000                                   | 3,67 <sup>b</sup> ±0,15       | 12,67 <sup>b</sup> ±1,15      | 8,56 <sup>b</sup> ±0,46       | 0                           |
| 2000                                   | 9,33 <sup>c</sup> ±1,03       | 16,00 <sup>c</sup> ±1,00      | 12,24 <sup>c</sup> ±1,22      | 1,5 <sup>b</sup> ±0,44      |
| 4000                                   | 15,67 <sup>d</sup> ±1,15      | 18,67 <sup>d</sup> ±0,58      | 16,24 <sup>d</sup> ±0,46      | 3,5 <sup>c</sup> ±0,50      |
| 8000                                   | <b>19,33<sup>e</sup>±1,03</b> | <b>21,33<sup>e</sup>±0,58</b> | <b>20,24<sup>e</sup>±1,22</b> | <b>5,0<sup>d</sup>±0,50</b> |
| Ampicillin                             | 37,33 <sup>f</sup> ±1,53      | 31,67 <sup>a</sup> ±1,15      | 25,01 <sup>f</sup> ±0,58      | -                           |
| Metronidazol                           | -                             | -                             | -                             | 7,0 <sup>e</sup> ±0,30      |
| DMSO                                   | 0                             | 0                             | 0                             | 0                           |

Ghi chú: Giá trị đường kính vòng ức chế là giá trị trung bình  $\pm$  SD. Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi một hoặc những chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Đối chứng âm: DMSO 30%. Đối chứng dương: Ampicillin (100  $\mu\text{g/mL}$ ) đối với vi khuẩn và Metronidazole (100  $\mu\text{g/mL}$ ) đối với nấm.

**Bảng 3.15. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của BLL đối với vi khuẩn và nấm**

| Vi khuẩn             | MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) |            |               |
|----------------------|--------------------------|------------|---------------|
|                      | Lá lúa                   | Ampicillin | Metronidazole |
| <i>P. aeruginosa</i> | 4787,56±191,64           | < 100      |               |
| <i>S. aureus</i>     | 3939,16±100,52           | < 100      |               |
| <i>E. coli</i>       | 4817,50±313,40           | < 100      |               |
| <i>C. albicans</i>   | > 8.000                  |            | < 100         |

Ghi chú: Giá trị MIC là giá trị trung bình  $\pm$  SD. Đối chứng dương: Ampicillin (100  $\mu\text{g/mL}$ ) đối với vi khuẩn và Metronidazole (100  $\mu\text{g/mL}$ ) đối với nấm.

Dựa trên kết quả MIC trình bày ở Bảng 3.15, BLL thể hiện khả năng kháng khuẩn ở mức độ nhất định. Trong các chủng vi sinh vật thử nghiệm, *S. aureus* nhạy cảm cao nhất với MIC đạt 3939,16  $\pm$  100,52  $\mu\text{g/mL}$ , cho thấy BLL có tác động ức chế nhất định đối với vi khuẩn Gram dương. Đối với vi khuẩn Gram âm, *P. aeruginosa* và *E. coli* có mức MIC tương đối tương đồng, lần lượt là 4787,56  $\pm$  191,64  $\mu\text{g/mL}$  và 4817,50  $\pm$  313,40  $\mu\text{g/mL}$ , phản ánh hoạt tính kháng khuẩn yếu hơn so với trên *S. aureus*. Đặc biệt, đối với nấm *C. albicans*, MIC lớn hơn 8.000  $\mu\text{g/mL}$ , chứng tỏ BLL có tác dụng kháng nấm yếu. So sánh với đối chứng dương

(Ampicillin và Metronidazole có MIC < 100 µg/mL), hoạt tính kháng khuẩn của BLL còn thấp, đòi hỏi nồng độ cao để ức chế được sự phát triển của vi sinh vật.

### 3.4.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của BLL

Kết quả thử nghiệm khuếch tán trên giếng thạch cho thấy BLL có khả năng ức chế một số vi khuẩn gây bệnh, tuy nhiên hiệu quả phụ thuộc rõ rệt vào nồng độ. Theo mức phân loại của Saman và cs. (2022) và Morales và cs. (2003) [204,205], trong đó đường kính vòng ức chế ~5 mm được xem là yếu, 5–10 mm trung bình, 10–20 mm mạnh và 20–30 mm rất mạnh; BLL ở nồng độ thấp (500–1000 µg/mL) gần như không tạo vòng ức chế hoặc chỉ tạo vòng rất nhỏ  $\leq 5$  mm đối với *P. aeruginosa* và *E. coli*, được xếp mức yếu. Khi tăng nồng độ lên 2000–4000 µg/mL, BLL đạt mức mạnh đối với *S. aureus*, *E. coli* và *P. aeruginosa* (ZI 12–18 mm), song vẫn không đáng kể đối với *C. albicans* (ZI  $\leq 3,5$  mm). Ở nồng độ rất cao (8000 µg/mL), BLL đạt mức rất mạnh với *S. aureus* (ZI 21,33 mm) và *E. coli* (ZI 20,24 mm), trong khi *P. aeruginosa* ở mức mạnh (19,33 mm) và *C. albicans* chỉ đạt yếu (5 mm), thấp hơn so với đối chứng ampicillin 100 µg/mL (25,01–27,33 mm) và metronidazole 100 µg/mL (7 mm).

Kết quả vòng ức chế được củng cố bởi giá trị nồng độ ức chế tối thiểu. MIC của BLL đối với vi khuẩn dao động 3,9–4,8 mg/mL, trong khi MIC đối với nấm *C. albicans* > 8 mg/mL. Theo tiêu chuẩn phân loại MIC của Holetz và cs. (2002) [206], hoạt tính được xem là tốt khi MIC < 100 µg/mL, trung bình từ 100–500 µg/mL, yếu từ 500–1000 µg/mL và không đáng kể khi > 1000 µg/mL. Như vậy, BLL thể hiện hoạt tính kháng không đáng kể đối với cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm, đồng thời hầu như không có hiệu quả kháng nấm. So sánh với đối chứng Ampicillin/Metronidazole 100 µg/mL – có khả năng ức chế hoàn toàn vi khuẩn và nấm ở nồng độ thấp – cho thấy hiệu lực của BLL yếu hơn hàng chục lần, chỉ có tính chất kìm hãm nhẹ sự phát triển vi sinh vật chứ không phải tác nhân kháng khuẩn mạnh.

Sự nhạy cảm cao hơn của *S. aureus* có thể được lý giải bởi cấu trúc tế bào Gram dương đơn giản hơn, chỉ có một lớp peptidoglycan dày, dễ bị các hợp chất phenolic xâm nhập và phá vỡ. Trong khi đó, vi khuẩn Gram âm như *E. coli* và *P. aeruginosa* sở hữu màng ngoài chứa lipopolysaccharide, làm giảm tính thấm của các hợp chất kháng khuẩn và do đó ít nhạy cảm hơn [207].

Sự hiện diện của nhóm chất catechin bao gồm catechin, epigallocatechin gallate và epigallocatechin) trong BLL có liên quan trực tiếp đến hoạt tính ức chế vi khuẩn. Các catechin này đã được chứng minh có khả năng ức chế cả vi khuẩn

Gram dương và Gram âm thông qua các cơ chế phá vỡ màng tế bào, ức chế hoạt động enzyme nội bào và cản trở hình thành màng sinh học [208]. Tuy nhiên, mức độ tác động của chúng bị hạn chế khi cần đạt nồng độ cao mới phát huy hiệu quả. Tương tự, catechin còn có tác dụng kháng nấm bằng cách ức chế khả năng bám dính và hình thành biofilm của *C. albicans* [209]. Tuy nhiên, hiệu quả này bị hạn chế bởi đặc điểm cấu trúc phức tạp và khả năng kháng thuốc vốn có của loài nấm này [114], khiến *C. albicans* ít nhạy cảm hơn so với vi khuẩn và cần đến nồng độ cao hơn mới có hoạt động ức chế hiệu quả.

Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm yếu của BLL có thể một phần là do đây là sản phẩm bột đã qua sấy phun. Việc sấy phun ở nhiệt độ cao có thể làm giảm hoạt tính của một số hợp chất polyphenol nhạy nhiệt trong lá lúa, dẫn đến giảm hiệu quả kháng khuẩn [210,211]. Bên cạnh đó, việc sử dụng chất mang maltodextrin (MD) trong quá trình phối trộn và sấy phun giúp ổn định hoạt chất, bảo toàn tính chất hóa học và duy trì khả năng bảo quản, nhưng đồng thời có thể làm loãng hàm lượng hợp chất hoạt tính, dẫn đến giảm nồng độ tác động thực tế [212]. Ở nồng độ cao, MD còn có thể làm chậm quá trình giải phóng hoạt chất, làm tăng giá trị MIC [213]. Tuy nhiên, phương pháp sấy phun vẫn chứng minh hiệu quả trong việc bảo toàn độ ổn định của BLL, kéo dài thời gian bảo quản và hạn chế sự suy giảm hoạt tính theo thời gian.

Ngoài ra, sự khác biệt giữa kết quả vòng ức chế và MIC còn phản ánh tính chất khuếch tán hạn chế của các hợp chất phenolic và flavonoid qua môi trường thạch. Trong phương pháp khuếch tán, các hợp chất này khó lan truyền rộng, nên vòng ức chế có thể nhỏ hơn so với hiệu lực thực tế. Trong khi đó, MIC trong môi trường lỏng phản ánh chính xác hơn nồng độ cần thiết để ức chế hoàn toàn vi khuẩn.

Như vậy, BLL có tiềm năng kháng khuẩn hỗ trợ, đặc biệt trên *S. aureus* và *E. coli*, nhưng không hiệu quả trên nấm men *C. albicans* và kém nhạy với *P. aeruginosa*. Để nâng cao hiệu lực, cần nghiên cứu phân lập các phân đoạn giàu hoạt chất, tối ưu hóa quy trình chiết tách, cũng như điều chỉnh tỷ lệ chất mang MD nhằm tối ưu quá trình giải phóng hoạt chất. Việc kết hợp BLL với các tác nhân tăng tính thấm màng tế bào có thể mở ra khả năng ứng dụng như một thành phần hỗ trợ kháng khuẩn tự nhiên trong bảo quản thực phẩm hoặc hỗ trợ điều trị.

### 3.5. Tác động tiêu thụ BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột ở chuột

#### 3.5.1. Khảo sát ảnh hưởng của BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột

Thí nghiệm được thiết kế nhằm đánh giá sự thay đổi về thành phần và chức năng hệ vi sinh vật ruột qua ba hướng tiếp cận gồm (1) Sự thay đổi mật số vi khuẩn lactic acid (LAB) và vi khuẩn hiếu khí (AeB) bằng phương pháp nuôi cấy đĩa thạch; (2) Phân tích hệ gen vi sinh vật đường ruột bằng giải trình tự metagenomics vùng gen 16S rRNA; (3) Sự thay đổi các chỉ số huyết học, hình thái mô học của ruột non, và sự thay đổi trọng lượng cơ thể chuột được theo dõi để đánh giá tác động tổng thể của BLL đến chỉ số sinh lý và sức khỏe vật chủ.

##### 3.5.1.1. *Chỉ số huyết học*

Phân tích huyết học sau 14 ngày bổ sung BLL cho thấy các chỉ số máu của chuột BALB/c có sự thay đổi đáng kể nhưng vẫn nằm trong giới hạn sinh lý bình thường (Bảng 3.16). Số lượng hồng cầu (RBC), bạch cầu (WBC) và tiểu cầu (PLT) tăng đáng kể ở nhóm PC150 và PC300 so với nhóm đối chứng PCDC ( $p < 0,05$ ). Sự gia tăng RBC cho thấy khả năng hỗ trợ quá trình vận chuyển oxy, trong khi WBC và PLT tăng nhẹ có thể phản ánh đáp ứng miễn dịch sinh lý và hỗ trợ chức năng đông máu. Kết quả này gợi ý BLL có tiềm năng điều hòa nhẹ quá trình tạo máu và tăng cường miễn dịch [214].

Các phân nhóm bạch cầu (NEU, LYM, MON, EOS, BAS) cũng có xu hướng tăng, đặc biệt ở nhóm PC300, cho thấy khả năng kích hoạt cả đáp ứng miễn dịch bẩm sinh (qua NEU, MON) và miễn dịch thích nghi (qua LYM). Mặc dù có sự thay đổi nhưng tất cả các giá trị đều nằm trong giới hạn tham chiếu bình thường của chuột BALB/c, chứng tỏ không gây rối loạn miễn dịch hay viêm bất thường.

Ngược lại, hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), MCV và MCH giảm nhẹ ở nhóm bổ sung BLL so với đối chứng, nhưng vẫn nằm trong giới hạn sinh lý. Sự giảm nhẹ này có thể liên quan đến ảnh hưởng của polyphenol trong BLL đến chuyển hóa sắt hoặc pha loãng huyết tương, hiện tượng đã được ghi nhận trong một số nghiên cứu trước [215].

Nhìn chung, kết quả này phù hợp với báo cáo của Phimphilai và cs. (2021), trong đó chiết xuất lá lúa làm tăng nhẹ WBC và PLT mà không gây tác động tiêu cực lên sức khỏe tổng thể [39]. Việc tất cả các chỉ số đều nằm trong giới hạn bình thường cho thấy BLL an toàn trên hệ huyết học của chuột sau 14 ngày sử dụng, đồng thời có thể hỗ trợ điều hòa nhẹ quá trình tạo máu và miễn dịch.

**Bảng 3.16. Chỉ số huyết học của chuột sau khi tiêu thụ BLL**

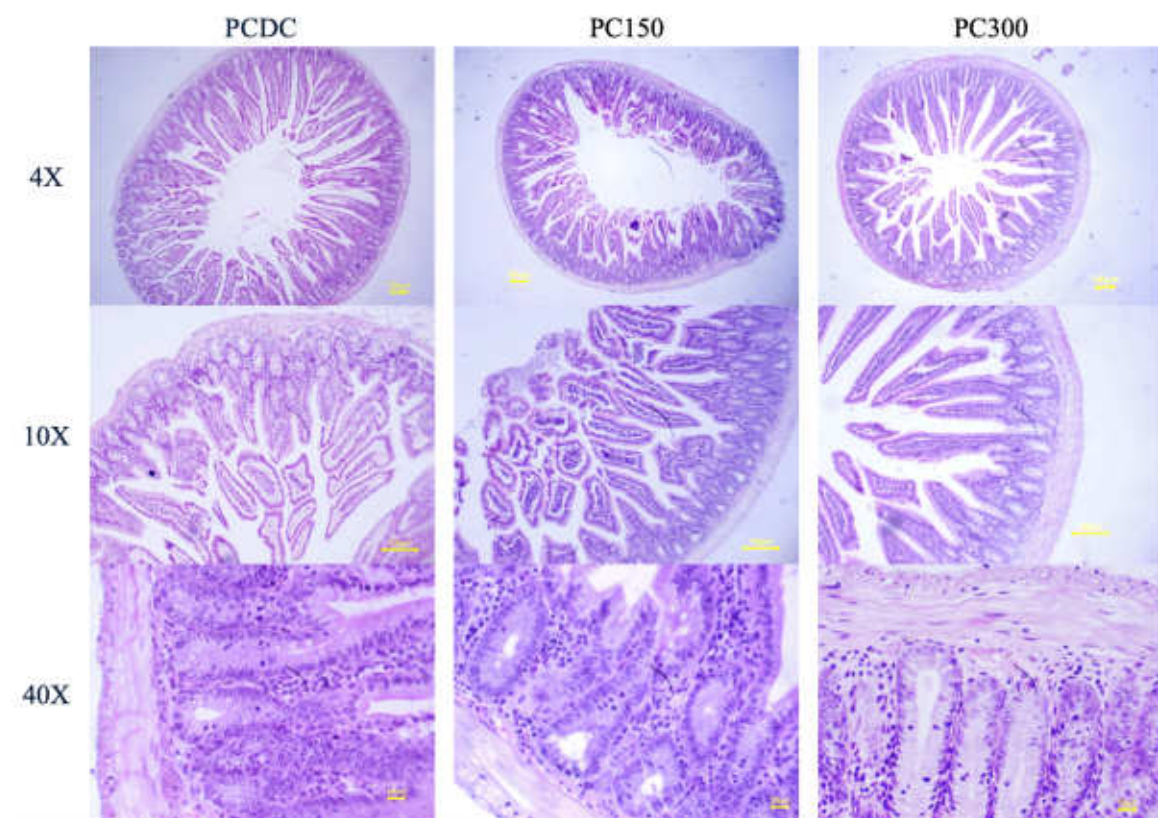
| Chỉ số                     | PCDC              | PC150                                | PC300                              | Giới hạn tham chiếu* |
|----------------------------|-------------------|--------------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| RBC ( $10^6/\mu\text{L}$ ) | $8,78 \pm 0,17$   | <b><math>10,09 \pm 0,51</math></b>   | $9,68 \pm 0,54$                    | 8,0 – 10,1           |
| HCT (%)                    | $46,2 \pm 1,11$   | <b><math>40,53 \pm 0,63</math></b>   | $39,29 \pm 0,42$                   | 36,4 – 49,6          |
| HGB (g/dL)                 | $12,03 \pm 0,76$  | <b><math>13,59 \pm 0,36</math></b>   | $12,53 \pm 0,93$                   | 11,9 – 15,5          |
| MCV (fL)                   | $51,43 \pm 1,15$  | $50,4 \pm 1,81$                      | <b><math>51,5 \pm 0,60</math></b>  | 42,3 – 54,7          |
| MCH (pg)                   | $14,12 \pm 0,65$  | $14,29 \pm 0,90$                     | <b><math>14,75 \pm 0,33</math></b> | 13,0 – 17,0          |
| MCHC (g/dL)                | $30,03 \pm 0,67$  | $31,3 \pm 0,75$                      | <b><math>32,67 \pm 0,75</math></b> | 28,4 – 36,4          |
| RDW-CV (%)                 | $13,67 \pm 0,58$  | <b><math>15,0 \pm 1,00</math></b>    | $14,67 \pm 0,58$                   | 13,2 – 17,6          |
| RDW-SD (fL)                | $26,63 \pm 0,31$  | <b><math>28,03 \pm 0,35</math></b>   | $27,0 \pm 1,00$                    | 23,1 – 33,1          |
| PLT ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $293,34 \pm 8,95$ | <b><math>342,36 \pm 17,06</math></b> | $303,18 \pm 8,09$                  | 80 – 1040            |
| WBC ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $5,4 \pm 0,10$    | $7,6 \pm 1,15$                       | <b><math>8,04 \pm 0,48</math></b>  | 2,3 – 9,3            |
| NEU ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $0,98 \pm 0,01$   | $1,79 \pm 0,08$                      | $1,70 \pm 0,10$                    | 1,5 – 3,9            |
| LYM ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $3,38 \pm 0,03$   | $4,7 \pm 0,01$                       | $4,77 \pm 0,06$                    | 5,4 – 8,4            |
| MON ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $0,37 \pm 0,01$   | $0,47 \pm 0,03$                      | $0,91 \pm 0,01$                    | 0 – 5,8              |
| EOS ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $0,13 \pm 0,02$   | $0,19 \pm 0,02$                      | $0,21 \pm 0,07$                    | 0 – 3,6              |
| BAS ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | $0,31 \pm 0,01$   | $0,33 \pm 0,01$                      | $0,19 \pm 0,02$                    | 0 – 0,92             |

Ghi chú: (\*) Khoảng biến thiên sinh lý bình thường ( $\text{min-max} \approx \text{mean} \pm 2\text{SD}$ ), dựa trên dữ liệu chuột BALB/c [216]. Các giá trị trong cùng một hàng theo sau bởi chữ cái giống nhau thì không có khác biệt ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). ns = sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ( $p > 0,05$ ). PCDC = đối chứng, PC150 = nhóm chuột bổ sung BLL liều 150 mg/kg, PC300 = nhóm chuột bổ sung BLL liều 300 mg/kg. MCV = thể tích hồng cầu trung bình, MCH = hemoglobin hồng cầu trung bình, MCHC = nồng độ hemoglobin hồng cầu trung bình, RDW-CV = Hệ số biến thiên độ rộng phân bố hồng cầu, RDW-SD = Độ lệch chuẩn độ rộng phân bố hồng cầu, PLT = số lượng tiểu cầu, WBC = số lượng bạch cầu, NEU = bạch cầu trung tính, LYM = tế bào lympho, MON = bạch cầu đơn nhân, EOS = bạch cầu ái toan, BAS = bạch cầu ái kiềm.

### 3.5.1.2. Hình thái mô học ruột non

Mô ruột non được nhuộm hematoxylin–eosin (H&E) để quan sát hình thái lớp biểu mô, độ dài nhung mao và dấu hiệu viêm hoặc tổn thương (Hình 3.33).

Kết quả cho thấy cả ba nhóm chuột (PCDC, PC150, PC300) đều có cấu trúc ruột non nguyên vẹn, với nhung mao đều, không phát hiện xâm nhập viêm, hoại tử hay mất biểu mô. Không có sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm về độ dài nhung mao hoặc mật độ tế bào tiết nhầy, chứng tỏ BLL không gây tác động bất lợi đến hàng rào niêm mạc ruột. Kết quả này khẳng định tính an toàn của BLL đối với niêm mạc ruột, một yếu tố quan trọng khi đánh giá các sản phẩm thực phẩm chức năng tiềm năng.

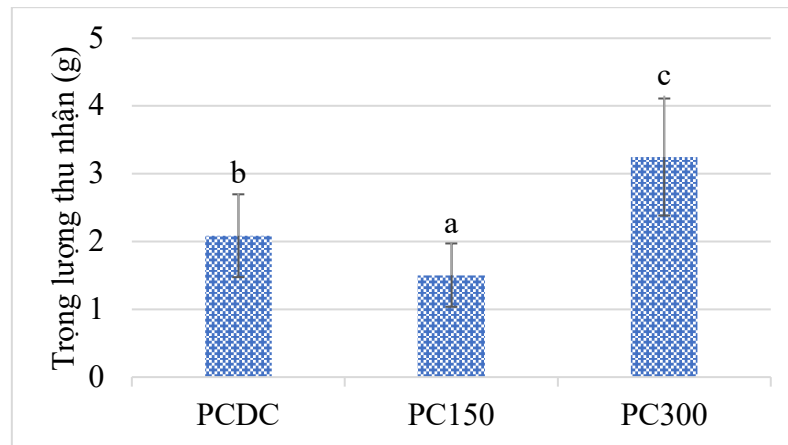


**Hình 3.33. Hình thái lớp cắt ruột non nhuộm hematoxylin và eosin**

*Ghi chú: Quan sát ở các vật kính 4X, 10X và 40X, PCDC = đối chứng. PCDC = Đối chứng, PC150 = nhóm chuột bổ sung BLL liều 150 mg/kg, PC300 = nhóm chuột bổ sung BLL liều 300 mg/kg.*

#### **3.5.1.3. Trọng lượng chuột**

Trọng lượng cơ thể được theo dõi trong suốt thời gian thí nghiệm (14 ngày) (Hình 3.34). Nhóm PC150 có mức tăng trọng thấp hơn đáng kể so với PCDC (trung bình tăng 1,5 g so với 2,0 g;  $p < 0,05$ ), trong khi nhóm PC300 có mức tăng cao hơn đáng kể (3,2 g;  $p < 0,05$ ) (Bảng P1.5.2).



**Hình 3.34. Gia tăng trọng lượng chuột sau 14 ngày**

*Ghi chú: Các giá trị trong hình được biểu thị dưới dạng trung bình  $\pm$  SD. Các chữ cái in thường (a, b, c) trên đầu cột chỉ ra sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ( $p < 0,05$ ). PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.*

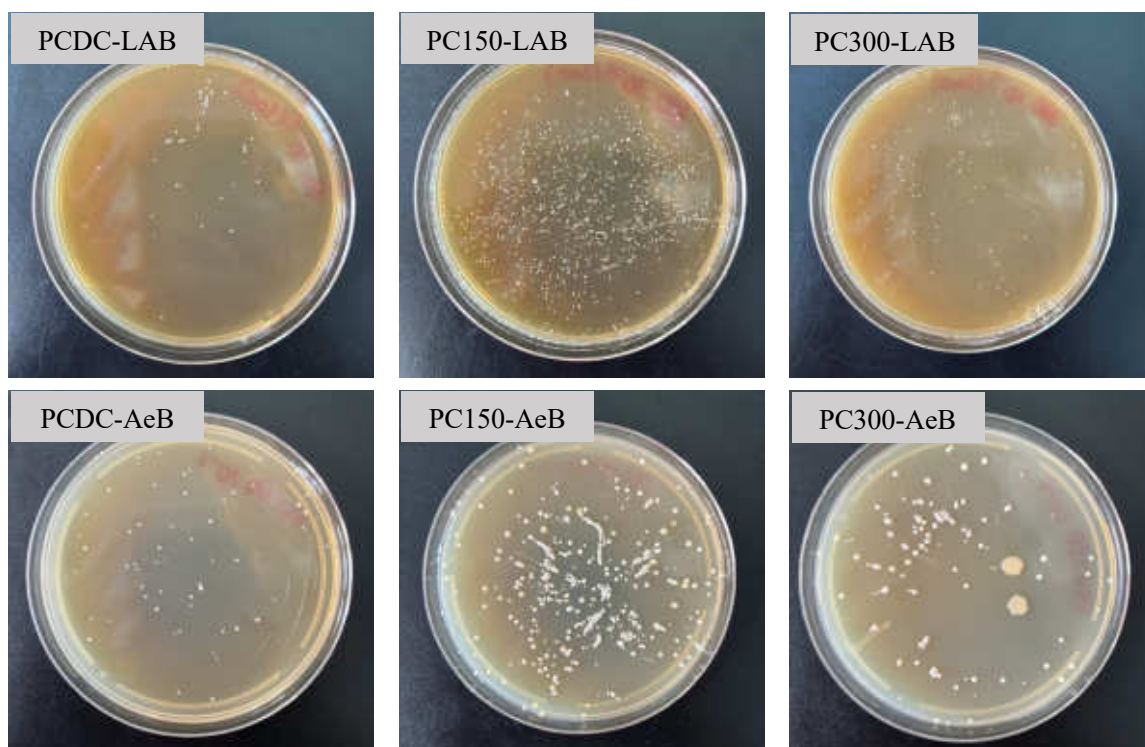
Nhìn chung, tác động của BLL phụ thuộc vào liều lượng: liều thấp có thể hỗ trợ kiểm soát cân nặng, trong khi liều cao có thể thúc đẩy tăng cân. Hiện tượng này có thể liên quan đến sự thay đổi trong quá trình chuyển hóa năng lượng và cấu trúc hệ vi sinh vật đường ruột được phân tích sâu hơn trong các phần tiếp theo.

#### **3.5.1.4. Mật số vi khuẩn LAB và AeB**

Sau 14 ngày thí nghiệm, mật số vi khuẩn đường ruột của chuột được phân tích bằng phương pháp nuôi cấy chọn lọc trên môi trường MRS agar (cho LAB) và TSA agar (cho AeB) (Hình 3.35). Mật số vi khuẩn LAB và AeB được biểu diễn ở dạng logCFU/mL trong biểu đồ hình 3.36 và được quy đổi về CFU/mL trong bảng P2.13.

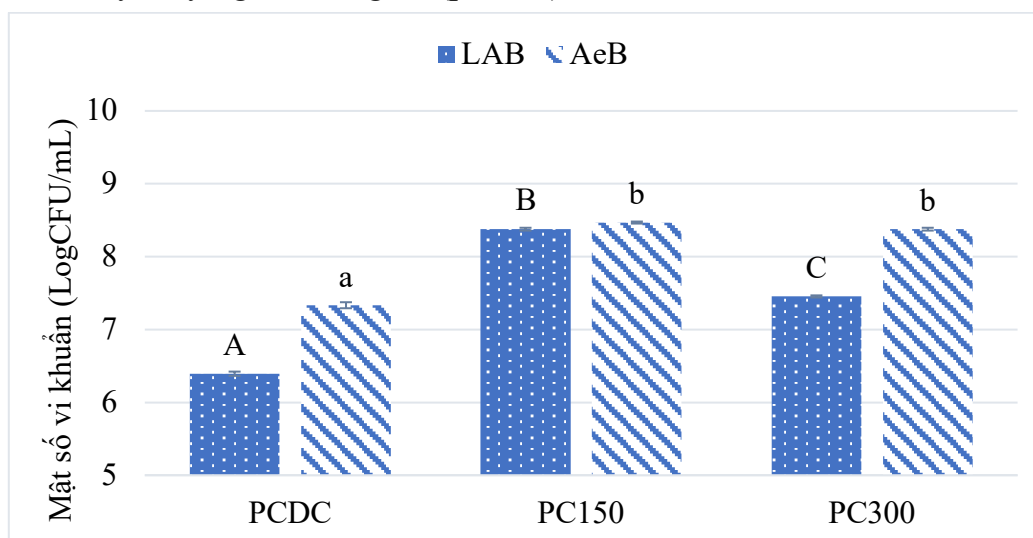
Ở nhóm đối chứng không tiêu thụ BLL, mật số AeB ghi nhận ở mức 7,33 logCFU/mL, tương đương  $2,15 \times 10^7$  CFU/mL, trong khi vi khuẩn LAB chỉ đạt 6,39 logCFU/mL, tương đương  $2,47 \times 10^6$  CFU/mL. Đây được xem là mức nền của hệ vi sinh vật đường ruột khi không bổ sung BLL.

Ở nhóm PC150, mật số vi sinh vật tăng mạnh so với đối chứng. Cụ thể, AeB đạt 8,47 logCFU/mL ( $2,94 \times 10^8$  CFU/mL), cao hơn PCDC 1,14 log đơn vị, tương đương tăng gấp khoảng 13,8 lần, trong khi LAB tăng đột biến lên 8,38 logCFU/mL ( $2,38 \times 10^8$  CFU/mL), cao hơn đối chứng 1,99 log đơn vị, tương đương tăng gần 98 lần. Sự gia tăng này có ý nghĩa thống kê rõ rệt ( $p < 0,05$ ), cho thấy liều 150 mg/kg BLL có tác dụng tối ưu trong việc kích thích sự phát triển của cả vi khuẩn hiếu khí và đặc biệt là LAB (Bảng P1.5.3-4).



**Hình 3.35. Phân lập vi khuẩn LAB và AeB trong phân**

Khi tăng liều BLL lên 300 mg/kg (PC300), mật số AeB vẫn được duy trì ở mức cao 8,38 logCFU/mL ( $2,38 \times 10^8$  CFU/mL) và không có sự khác biệt đáng kể so với PC150 ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, LAB ở nhóm PC300 chỉ đạt 7,45 logCFU/mL ( $2,84 \times 10^7$  CFU/mL), thấp hơn PC150 là 0,93 log đơn vị, tương đương giảm khoảng 8,5 lần, mặc dù vẫn cao hơn PCDC 1,06 log đơn vị (~gấp 11,5 lần), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với nhóm PC150.



**Hình 3.36. Mật số vi khuẩn LAB và AeB trong phân**

*Ghi chú: Các giá trị trong hình được biểu thị dưới dạng trung bình  $\pm$  SD. Các chữ cái in thường và in hoa khác nhau trên đầu cột chỉ ra sự khác biệt đáng kể về mật*

số LAB ( $A, B, C$ ) và AeB ( $a, b, c$ ) giữa các nhóm ( $p < 0,05$ ). PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.

Như vậy, việc bổ sung BLL liều 150 mg/kg giúp gia tăng tối đa LAB đồng thời cải thiện AeB, trong khi liều 300 mg/kg vẫn có tác dụng nhưng kém hiệu quả hơn đối với LAB.

### 3.5.1.5. Thành phần và dự đoán chức năng hệ vi sinh vật đường ruột

Phân tích giải trình tự gen 16S rRNA được thực hiện nhằm đánh giá tác động của việc bổ sung BLL đến độ đa dạng, thành phần và chức năng của hệ vi sinh vật đường ruột.

#### Đa dạng alpha và beta

Các chỉ số được phân tích bao gồm: đa dạng alpha (Ace, Chao1, Shannon, Simpson, Goods coverage, Faith's Phylogenetic Diversity – FPD) và đa dạng beta (PCoA dựa trên khoảng cách Bray-Curtis).

Các chỉ số đánh giá đa dạng alpha, bao gồm Ace, Chao1, Shannon, Simpson và Goods coverage, giữa ba nhóm chuột (PC150, PC300 và PCDC) sau 14 ngày can thiệp bằng BLL thể hiện sự khác biệt về mức độ phong phú và đa dạng của hệ vi sinh vật đường ruột (Bảng 3.17).

**Bảng 3. 17. Chỉ số đa dạng alpha và beta**

| Nhóm  | Ace    | Chao1  | Shannon | Simpson | Goods_coverage |
|-------|--------|--------|---------|---------|----------------|
| PCDC  | 544.32 | 538.50 | 6.13    | 0.968   | 0.999          |
| PC150 | 487.58 | 490.45 | 5.37    | 0.945   | 0.999          |
| PC300 | 559.79 | 560.14 | 6.43    | 0.969   | 0.999          |

*Ghi chú: PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.*

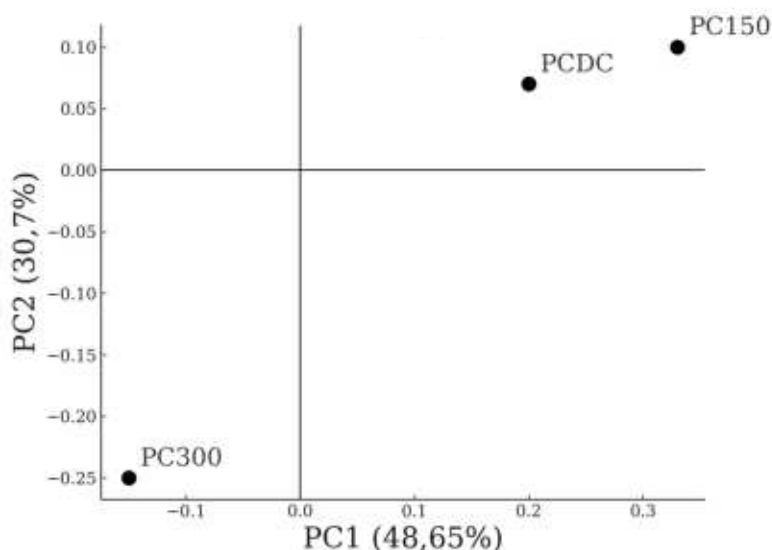
- Ace và Chao1: Đây là hai chỉ số phản ánh độ phong phú loài (số lượng OTU dự đoán). Nhóm PC300 có giá trị Ace và Chao1 cao hơn so với PCDC và PC150. Việc bổ sung BLL ở liều 300 mg/kg có khả năng cải thiện sự phong phú vi sinh vật so với liều thấp và nhóm đối chứng.

- Chỉ số Shannon: Là chỉ số tích hợp đánh giá đồng thời cả số lượng loài và mức độ phân bố đồng đều. PC300 tiếp tục ghi nhận giá trị cao nhất, tiếp theo là PCDC và PC150, cho thấy cộng đồng vi sinh vật ở PC300 có sự đa dạng và phân bố cân bằng hơn.

- Chỉ số Simpson: Đánh giá mức độ chi phối của các loài ưu thế. Giá trị Simpson của PC300 và PCDC cao hơn PC150, tương ứng hệ vi sinh vật ở liều cao BLL có xu hướng đồng đều hơn và ít bị chi phối bởi một số loài trội.

- Goods coverage: Tất cả các nhóm đều đạt giá trị 0,999, xác nhận rằng độ sâu giải trình tự đã đủ để phản ánh toàn diện cấu trúc hệ vi sinh vật.

Phân tích tọa độ chính (PCoA) dựa trên khoảng cách Bray-Curtis cho thấy liều lượng bổ sung BLL có vai trò quyết định trong việc điều chỉnh hệ vi khuẩn đường ruột. Việc phân cụm rõ ràng của PC300 chứng minh hiệu lực sinh học mạnh hơn của liều cao so với liều thấp (Hình 3.37).



**Hình 3.37. Biểu đồ phân tích tọa độ chính (PCoA) về sự đa dạng beta**

Ghi chú: PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.

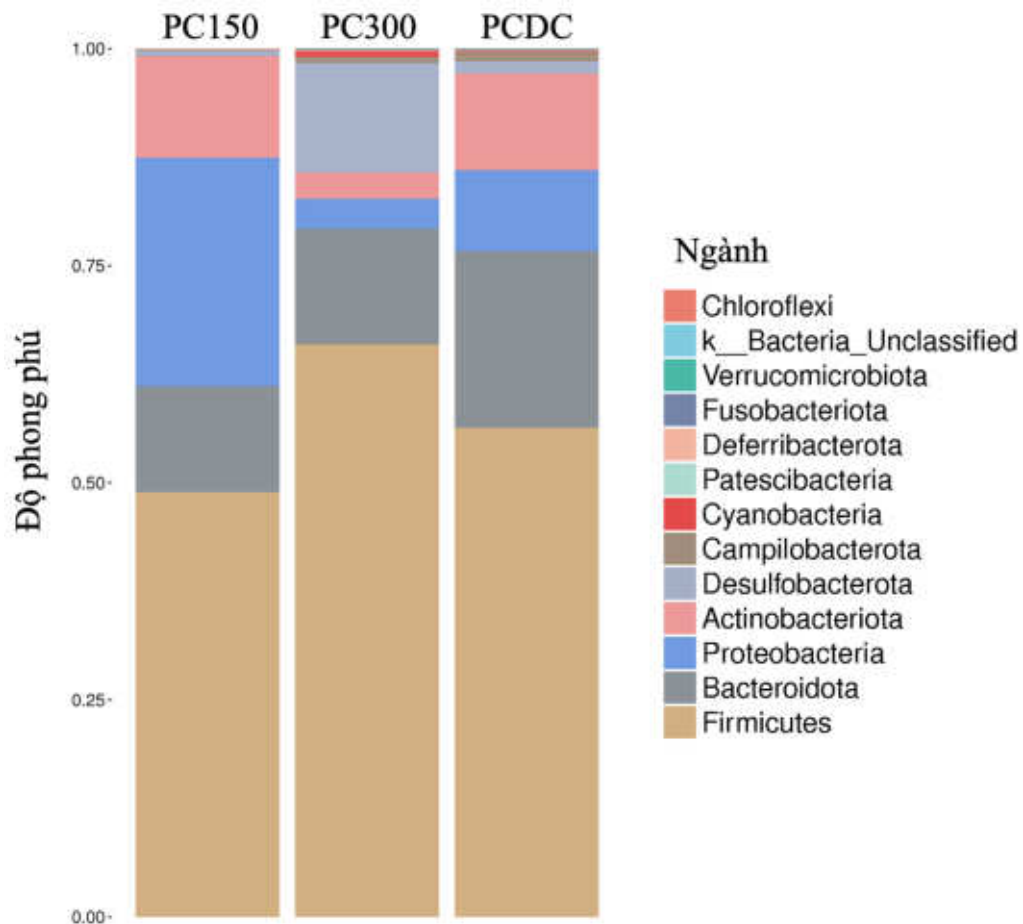
Nhìn chung, việc bổ sung BLL liều cao (PC300) có tác động tích cực đến việc cải thiện sự phong phú, đồng đều và đa dạng của hệ vi sinh vật đường ruột so với liều thấp (PC150) và nhóm đối chứng (PCDC). Dù không có kiểm định thống kê, xu hướng quan sát này cho thấy tiềm năng của BLL trong việc điều hòa vi sinh vật đường ruột theo hướng có lợi.

#### **Thành phần hệ vi sinh vật đường ruột**

Những thay đổi trong thành phần vi sinh vật đường ruột ở mỗi nhóm chuột được so sánh ở cấp độ ngành, họ và chi (Hình 3.38-3.40).

Ở cấp ngành, sự phong phú tương đối của *Firmicutes* trong nhóm PC150 giảm (48,92%) trong khi ở nhóm PC300 tăng (65,93%) khi so sánh với PCDC (56,36%). *Firmicutes* liên quan đến tăng hấp thu năng lượng từ thức ăn [217]. Tương tự, sự phong phú của *Proteobacteria* tăng đáng kể ở nhóm PC150 (gấp 2,8 lần) và giảm ở nhóm PC300 (gấp 2,7 lần) khi so sánh với PCDC. *Proteobacteria* thường liên quan đến viêm và mất cân bằng vi sinh vật [218]. Ngược lại, *Bacteroidota* có sự phong phú giảm ở PC150 và PC300, thấp hơn 1,5 lần so với

nhóm đối chứng, tương ứng BLL có thể ức chế một số nhóm vi khuẩn sản xuất SCFA như *Bacteroides* [219]. Độ phong phú tương đối của *Actinobacteriota* giảm mạnh ở nhóm PC300 (3,02%) nhưng ổn định ở nhóm PC150 (11,67%) khi so sánh với PCDC (11,11%). Ngược lại, *Desulfobacterota* tăng mạnh ở nhóm PC300 (12,61%) nhưng giảm mạnh ở nhóm 150 (0,57%) khi so sánh với nhóm đối chứng (1,4%), đây là ngành vi khuẩn liên quan đến chuyển hóa lưu huỳnh.

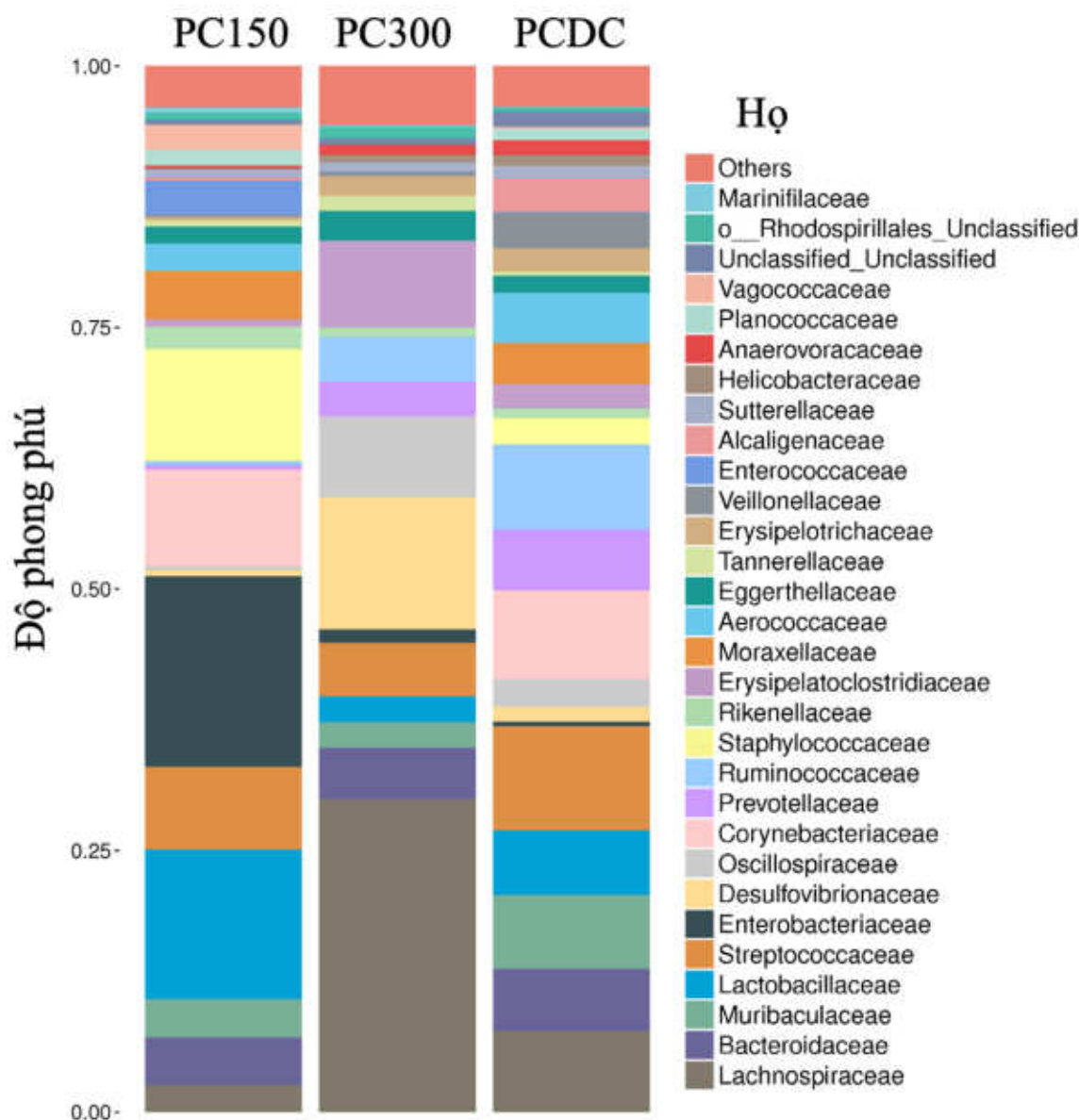


**Hình 3.38. Sự phong phú thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp ngành**

Ghi chú: PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.

Ở cấp độ họ, hai liều bổ sung 150 mg/kg và 300 mg/kg có sự khác biệt về nhóm vi khuẩn chiếm ưu thế. Cụ thể, *Lachnospiraceae* (*Firmicutes*) chiếm ưu thế ở PC300 (29,9%), nhưng thấp ở PC150 (2,65%) so với PCDC (15,4%), đây là nhóm vi khuẩn sản xuất SCFA, đặc biệt acetic acid, liên quan đến tăng cân [220]. Ngược lại, *Lactobacillaceae* (*Firmicutes*) chiếm ưu thế ở PC150 (18,2%) nhưng thấp ở PC300 (3,1%) so với PCDC (7,8%). *Lactobacillaceae*, đặc biệt *Lactobacillus*, liên quan đến kiểm soát cân nặng [221]. *Enterobacteriaceae* (*Proteobacteria*) tăng mạnh ở PC150 (18,22%) nhưng thấp ở PC300 (1,28%) so với PCDC (0,45%). *Desulfovibrionaceae* cao ở nhóm PC300 (12,61%) so với

PCDC (1,4%) và PC150 (0,57%). *Bacteroidaceae* và *Muribaculaceae* (*Bacteroidota*) giảm ở cả PC150 và PC300 so với PCDC, chúng tỏ tác động ức chế của BLL lên nhóm này.

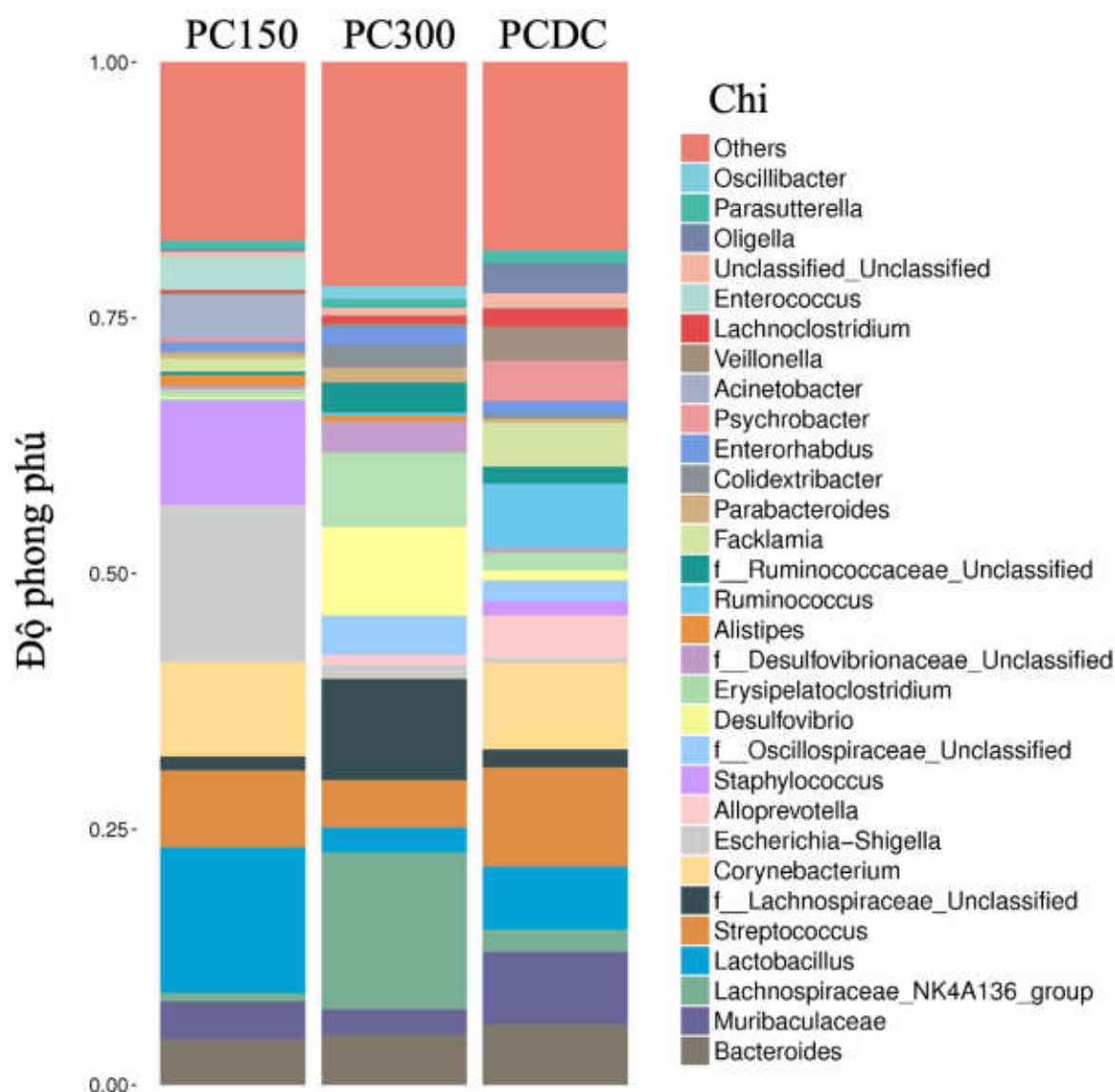


**Hình 3.39. Sự phong phú về thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp họ**

Ghi chú: PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.

Ở cấp độ chi, *Lachnospiraceae* NK4A136 group: Chiếm ưu thế ở PC300 (15,0%, gấp 7 lần PCDC: 2,1%), nhưng thấp ở PC150 (0,3%). Nhóm này sản xuất acetic acid, hỗ trợ tăng cân [220]. *Lactobacillus* chiếm ưu thế ở PC150 (16,8%, gấp 5,8 lần PC300: 2,9% và 2,3 lần PCDC: 7,3%), liên quan đến giảm hấp thu lipid. *Escherichia-Shigella*, *Staphylococcus* tăng ở PC150 (15,31% và 10,11%) so với PC300 (1,27% và 0,03%) và PCDC (0,45% và 1,43%). *Muribaculaceae*, *Streptococcus*, *Desulfovibrio*, *Bifidobacterium* tăng ở PC300, là nhóm vi khuẩn

hỗ trợ sản xuất SCFA và cải thiện sức khỏe ruột [222]. *Corynebacterium*, *Acinetobacter* và *Enterococcus* tăng ở PC150, liên quan đến kiểm soát cân nặng [223].



**Hình 3.40. Sự phong phú về thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp chi**

*Ghi chú: PCDC = đối chứng, PC150 = bột lá lúa liều 150 mg/kg, PC300 = bột lá lúa liều 300 mg/kg.*

#### **Dự đoán chức năng sinh học của hệ vi sinh vật đường ruột ở chuột**

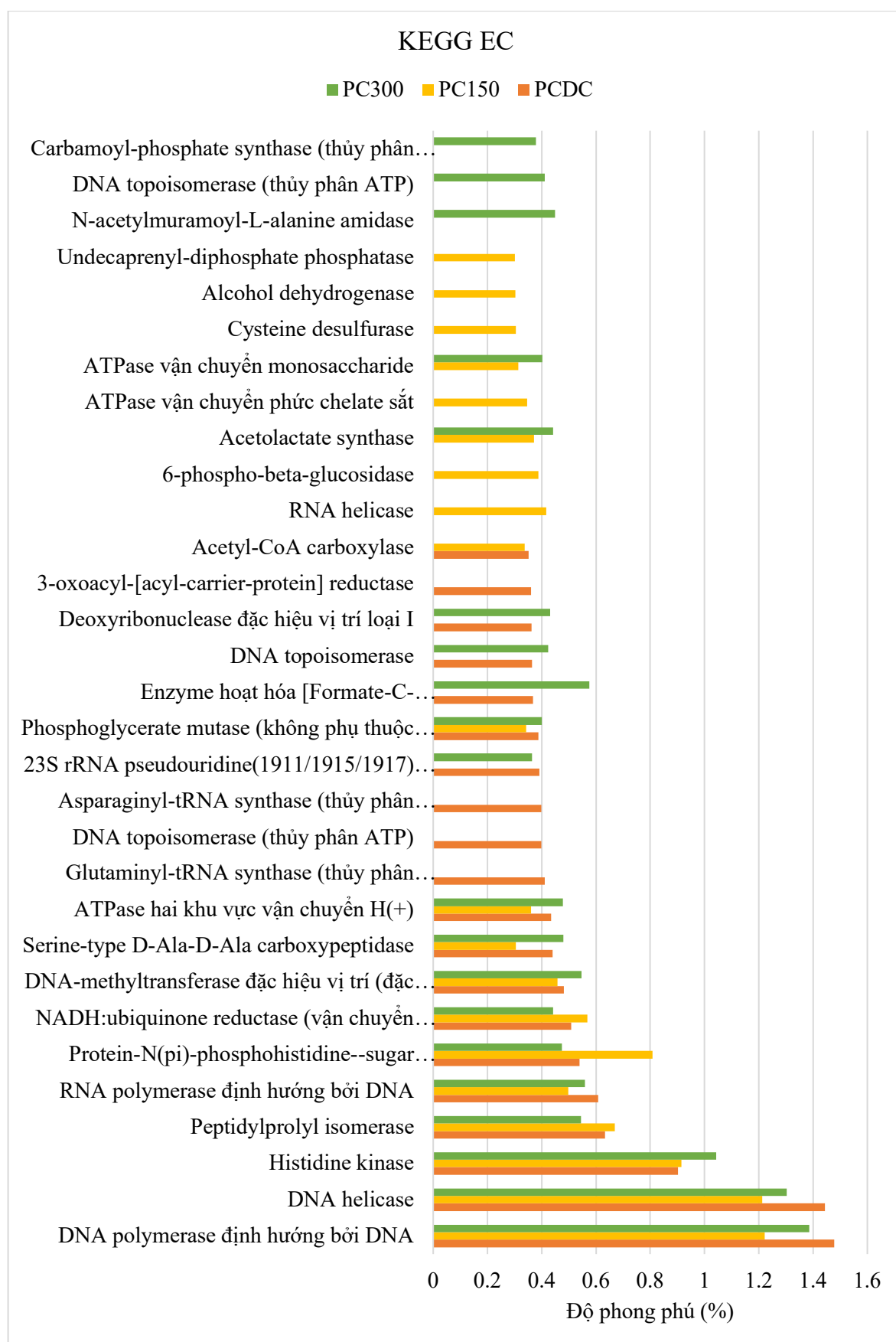
Thay đổi trong thành phần hệ vi sinh vật đường ruột có thể dẫn đến biến đổi đáng kể trong các hoạt động trao đổi chất và sinh lý của chúng. Phân tích dự đoán chức năng vi sinh vật bằng công cụ PICRUSt dựa trên dữ liệu OTUs với kết quả tổng cộng có 369 con đường thuộc MetaCyc, 5992 con đường KO (KEGG Orthology) và 1915 enzyme EC (Enzyme Commission) được xác định.

Dựa vào mức độ biểu hiện cao nhất trong 20 con đường/chức năng (MetaCyc, KO, EC) trong mỗi nhóm chuột (PCDC, PC150 và PC300) cho thấy có sự giống nhau và khác nhau khi tiêu thụ BLL (Hình 3.41-3.43).

**KEGG EC (Enzyme Commission):** Cả ba nhóm chuột PCDC, PC150 và PC300 chia sẻ nhiều con đường enzyme cơ bản, đồng thời thể hiện sự khác biệt rõ rệt về mức độ phong phú tương đối của các enzyme liên quan đến quá trình sao chép, sửa chữa DNA, chuyển hóa năng lượng và thích nghi sinh lý.

Về điểm giống nhau, các enzyme liên quan đến sao chép và sửa chữa DNA như DNA polymerase định hướng bởi DNA (EC:2.7.7.7), DNA helicase (EC:3.6.4.12), và RNA polymerase định hướng bởi DNA đứng đầu bảng ở cả ba nhóm, chứng tỏ sự bảo tồn cao của chức năng sao chép và sửa chữa DNA. Bên cạnh đó, histidine kinase, peptidylprolyl isomerase và RNA polymerase cũng xuất hiện phổ biến, nhấn mạnh tầm quan trọng của cơ chế điều hòa tín hiệu và phiên mã gen, đảm bảo khả năng thích nghi của vi sinh vật trong hệ sinh thái đường ruột. Một số enzyme chuyển hóa năng lượng cơ bản, điển hình là NADH:ubiquinone reductase và phosphoglycerate mutase, cũng được bảo tồn, đảm bảo khả năng sản xuất ATP và trung gian chuyển hóa cần thiết cho hoạt động sống.

Về điểm khác biệt, nhóm PC300 nổi bật với các enzyme liên quan đến tổng hợp protein như acetolactate synthase, N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase, carbamoyl-phosphate synthase, đồng thời tăng cường enzyme về chuyển hóa năng lượng, như acetolactate synthase (EC:2.2.1.6), enzyme hoạt hóa formate-C-acetyltransferase (EC:1.97.1.4) và ATPase vận chuyển monosaccharide, thể hiện mức độ chuyển hóa nâng cao nhằm đáp ứng nhu cầu sinh trưởng và sản xuất chất chuyển hóa thứ cấp. Trong khi đó, PC150 nổi bật với enzyme phân giải đường (6-phospho- $\beta$ -glucosidase) và vận chuyển ion (iron-chelate-transporting ATPase), cùng sự gia tăng biểu hiện của acyl-CoA oxidase, triacylglycerol lipase và phospholipase, chứng minh sự tăng cường phân giải lipid và carbohydrate [224]. Trong khi đó, nhóm PCDC thiên về các enzyme bảo tồn ổn định di truyền như DNA topoisomerase, deoxyribonuclease đặc hiệu vị trí loại I, và DNA-methyltransferase đặc hiệu adenine, phản ánh hệ vi sinh vật ở trạng thái cân bằng, ưu tiên duy trì cấu trúc bộ gen và hoạt động cơ bản hơn là thích nghi chuyển hóa nâng cao.

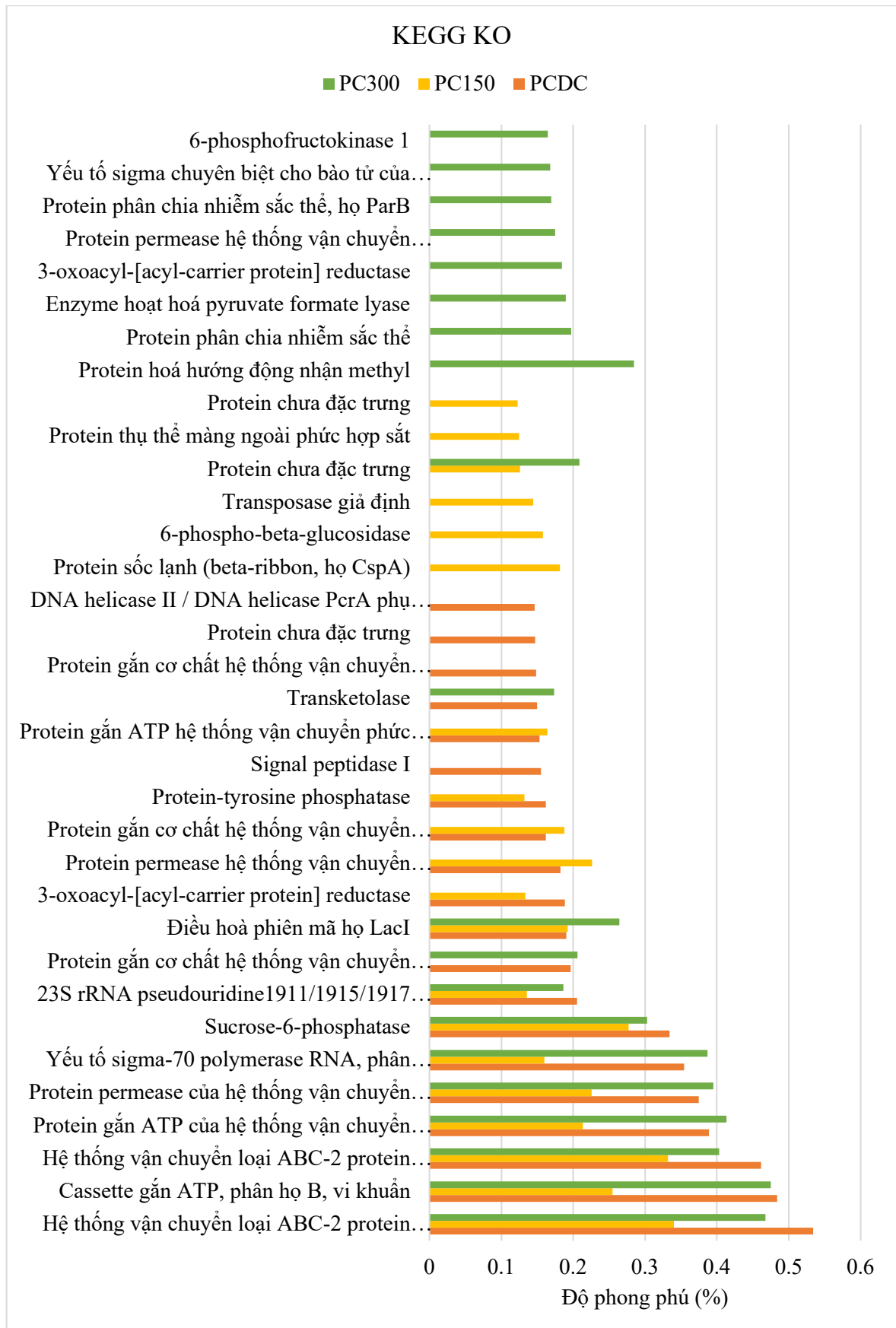


**Hình 3.41. Hồ sơ dự đoán chức năng trong 20 con đường enzyme biểu hiện cao nhất (KEGG EC)**

**KEGG KO (KEGG Orthology):** Sự phân bố các gen chức năng trong cộng đồng vi sinh vật đường ruột của ba nhóm chuột PCDC, PC150 và PC300 có nhiều điểm tương đồng nhưng vẫn tồn tại các khác biệt rõ rệt liên quan đến chuyển hóa và điều hòa sinh học.

Về điểm giống nhau, cả ba nhóm đều có sự hiện diện phổ biến của hệ thống vận chuyển ABC như ABC-2.A, ABC-2.P, ABC.CD.A, ABC.CD.P (nằm trong nhóm top 5 của cả ba nhóm), phản ánh vai trò trung tâm của các protein vận chuyển trong việc cung cấp dinh dưỡng, ion và các phân tử thiết yếu. Ngoài ra, các gen liên quan đến tổng hợp và sửa chữa DNA/RNA như *rpoE* (RNA polymerase sigma-70), *rluD* (23S rRNA pseudouridine synthase) và transketolase (*tktA*, *tktB*) cũng xuất hiện ở cả ba nhóm, cho thấy các quá trình phiên mã và ổn định bộ gen (thuộc về chức năng cơ bản) được duy trì. Một số enzyme chuyển hóa như sucrose-6-phosphatase (SPP) và các gen mã hóa enzyme tham gia đường phân (*pfkA*, transketolase) và tổng hợp fatty acid (*fabG*) cũng được phát hiện phổ biến ở cả ba nhóm, nhấn mạnh sự duy trì các quá trình chuyển hóa năng lượng và sinh tổng hợp chất béo (lipid) cơ bản.

Về điểm khác biệt, nhóm PC300 có biểu hiện nổi bật của các gen liên quan đến phân chia nhiễm sắc thể (*parA/soj* và *parB/spo0J* chromosome partitioning protein) và đáp ứng stress môi trường (*sigH*/RNA polymerase sporulation-specific sigma factor; *mcp*/methyl-accepting chemotaxis protein), chuyển hoá năng lượng (*pfkA*/6-phosphofructokinase 1), điều này có nghĩa liều cao BLL có thể kích thích khả năng thích nghi và điều hòa chu trình tế bào của vi sinh vật. Trong khi đó, PC150 tăng cường biểu hiện các gen liên quan đến phân giải đường như *bglA* (6-phospho-beta-glucosidase) và sucrose-6-phosphatase và gen phản ứng căng thẳng (*cspA*/cold shock protein), phản ánh sự thúc đẩy phân giải đường nhằm cung cấp năng lượng. Ngược lại, PCDC nổi bật ở các gen liên quan đến tái tạo và sửa chữa DNA (DNA helicase *uvrD/pcrA*), vận chuyển sắt và phức hợp sắt (ABC.FEV.P, ABC.FEV.S, ABC.FEV.A), gợi ý rằng cộng đồng vi sinh vật trong nhóm này chủ yếu duy trì ổn định di truyền, trao đổi chất và hoạt động sinh trưởng cơ bản mà chưa có sự điều chỉnh mạnh mẽ về chuyển hóa.



**Hình 3.42. Hồ sơ dự đoán chức năng trong 20 gen biểu hiện cao nhất (KEGG KO)**

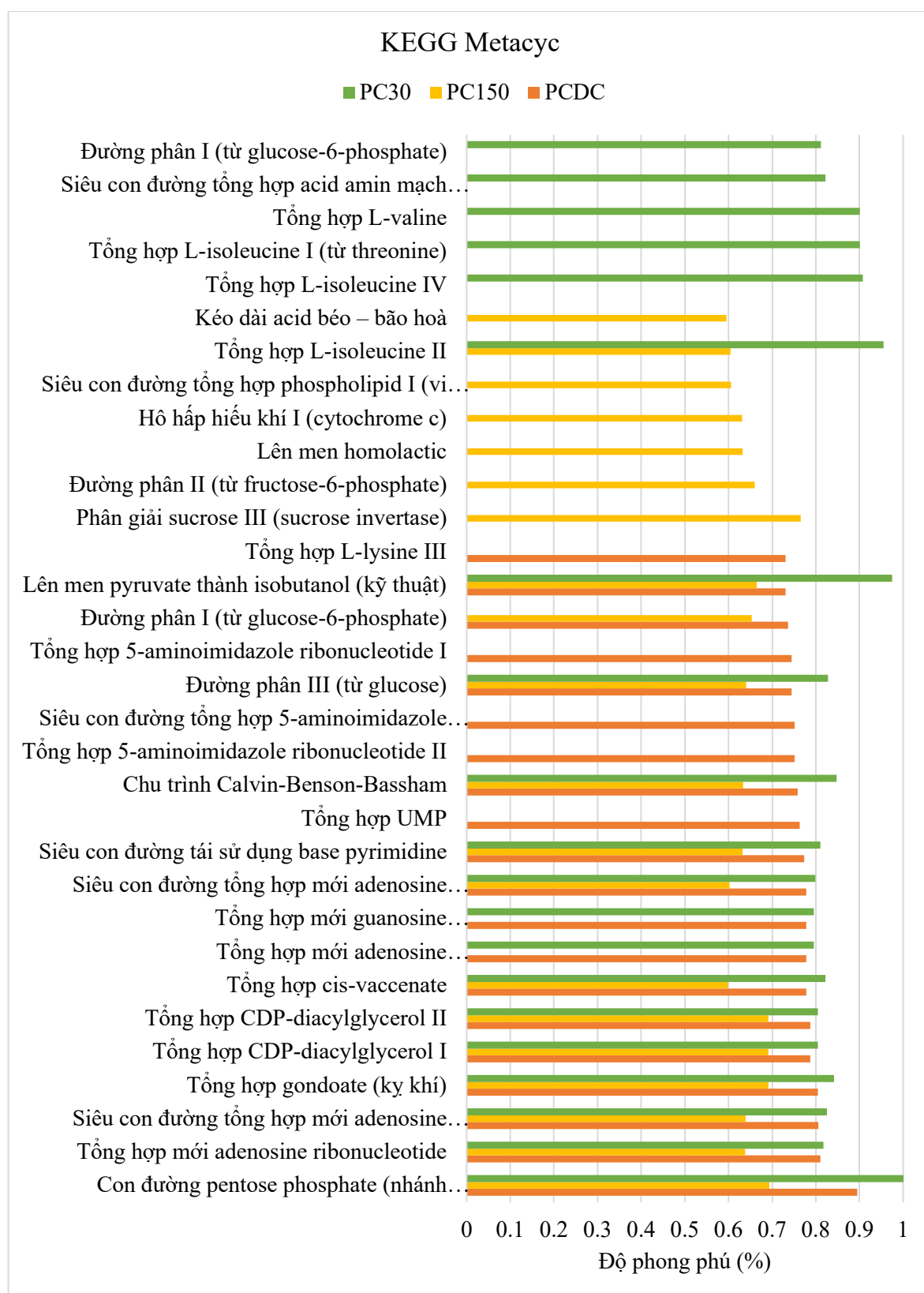
***MetaCyc pathways:*** Sự phân bố đa dạng của các con đường chuyển hóa vật chất thể hiện sự khác biệt đặc trưng về mặt chức năng trao đổi chất trong cộng đồng vi sinh vật đường ruột giữa các nhóm chuột.

Về điểm giống nhau, cả ba nhóm đều duy trì các con đường chuyển hóa cơ bản, đặc biệt là con đường pentose phosphate (nhánh không oxy hóa), đường phân (glycolysis I, II, III), chu trình Calvin-Benson-Bassham, cũng như các con đường tổng hợp nucleotide như tổng hợp de novo adenosine ribonucleotide, siêu con đường tổng hợp de novo adenosine nucleotide I & II, và siêu con đường tái chế pyrimidine nucleobase. Các con đường này đóng vai trò thiết yếu trong việc cung cấp năng lượng, trung gian chuyển hóa và tiền chất cho tổng hợp DNA/RNA, phản ánh tính bảo tồn cao của các quá trình trao đổi chất nền tảng trong hệ vi sinh vật đường ruột.

Về điểm khác biệt, nhóm PC300 gia tăng rõ rệt các con đường liên quan đến tổng hợp amino acid chuỗi nhánh, bao gồm tổng hợp L-isoleucine (I, II, IV), tổng hợp L-valine, và siêu con đường tổng hợp amino acid chuỗi nhánh, đồng thời tăng cường lên men pyruvate thành isobutanol, biểu hiện chuyển hóa nâng cao hướng đến sản xuất amino acid, các chất chuyển hóa thứ cấp và thu nhận năng lượng. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, sự gia tăng các con đường chuyển hóa amino acid chuỗi nhánh đóng vai trò quan trọng trong hỗ trợ tăng khối lượng cơ và phục hồi chuyển hóa [225,226].

Thêm vào đó, nhóm PC150 ưu tiên các con đường phân giải carbohydrate như phân giải sucrose III, đường phân glycolysis II, cùng các quá trình lên men lactic acid và hô hấp hiếu khí I (cytochrome c), phản ánh nhu cầu cung cấp năng lượng nhanh và trực tiếp hơn. Ngược lại, nhóm PCDC nổi bật với các con đường tái tạo nucleotide và sửa chữa DNA như tổng hợp UMP, tổng hợp L-lysine III, và các con đường liên quan đến ổn định cấu trúc di truyền, cho thấy hệ vi sinh vật ở trạng thái cân bằng, chủ yếu duy trì chức năng cơ bản thay vì điều chỉnh chuyển hóa nâng cao.

Tóm lại, PCDC phản ánh hoạt động vi sinh vật nền ổn định, nghiêng về sao chép, sửa chữa và tổng hợp cơ bản. PC150 kích hoạt các con đường tiêu hóa carbohydrate và lên men, hỗ trợ chuyển hóa năng lượng ngắn hạn. Nhóm PC300 điều hòa chuyển hóa toàn diện hơn, bao gồm tăng sinh protein, chuyển hóa amino acid, cải thiện năng lượng và khả năng thích nghi.



**Hình 3.43. Hồ sơ dự đoán chức năng của hệ vi khuẩn đường ruột trong 20 con đường biểu hiện cao nhất (KEGG MetaCyc)**

### 3.5.2. Đánh giá tác động tiêu thụ BLL trên mô hình chuột

#### 3.5.2.1. *Huyết học và mô học*

Bổ sung BLL ở liều 150 mg/kg và 300 mg/kg không gây độc tính cấp, tử vong hay tổn thương mô học trên chuột. Các chỉ số huyết học ghi nhận sự gia tăng RBC, WBC, PLT kèm giảm nhẹ hemoglobin và hematocrit, nhưng vẫn nằm trong giới hạn sinh lý bình thường, không ảnh hưởng đến sức khỏe vật chủ [216]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phimphilai và cs. (2021), khi chiết xuất lá lúa không gây độc tính ở liều tới 5 g/kg thể trọng [39]. Quan sát mô học ruột non không phát hiện dấu hiệu viêm, hoại tử hay thay đổi cấu trúc biểu mô, cho thấy BLL không gây tổn thương hàng rào ruột và đáp ứng tiêu chuẩn an toàn của nguyên liệu thực phẩm chức năng.

#### 3.5.2.2. *Mật số vi khuẩn LAB và AeB*

Sau 14 ngày bổ sung BLL, mật số vi khuẩn LAB tăng đáng kể ở cả hai liều PC150 và PC300 so với đối chứng, cho thấy BLL có đặc tính prebiotic, cung cấp cơ chất lên men và tạo vi môi trường thuận lợi cho lợi khuẩn phát triển [138]. LAB đóng vai trò quan trọng trong sản sinh SCFA, giảm pH đường ruột, ức chế vi khuẩn gây bệnh và tăng cường hàng rào biểu mô [137].

Tuy nhiên, mức tăng LAB ở nhóm PC150 cao hơn PC300, gợi ý liều 150 mg/kg là tối ưu, trong khi liều cao có thể gây ức chế nhẹ do nồng độ polyphenol và hợp chất thứ cấp cao, vốn có đặc tính kháng khuẩn không chọn lọc [227]. Catechin (đặc biệt EGCG) trong BLL có thể ức chế vi khuẩn gây bệnh như *E. coli* và *S. aureus*, đồng thời kích thích *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* [208,228]. Song ở nồng độ cao, catechin có thể ảnh hưởng đến một số chủng LAB nhạy cảm. Ngoài ra, sự lên men mạnh mẽ làm giảm pH ruột quá mức cũng tạo môi trường kém thuận lợi cho các chủng nhạy cảm [229]. Hiện tượng “liều thấp tối ưu – liều cao kém hiệu quả” tương tự được ghi nhận với chiết xuất rễ *Imperata cylindrica* L., khi liều thấp (90 mg/kg) tạo mật số LAB cao hơn liều cao (115 mg/kg) [137].

Mật số vi khuẩn hiếu khí tổng số (AeB) cũng tăng rõ rệt ở cả hai liều bổ sung, phản ánh sự cải thiện môi trường đường ruột và cân bằng hệ vi sinh thông qua sự gia tăng LAB song song. Điều này chứng tỏ BLL có khả năng điều hòa quần thể vi sinh vật đường ruột theo hướng có lợi, thúc đẩy quá trình lên men carbohydrate, cạnh tranh với vi khuẩn gây hại và hỗ trợ sức khỏe đường ruột.

### 3.5.2.3. Hệ vi sinh vật đường ruột

Phân tích giải trình tự 16S rRNA cho thấy BLL làm thay đổi đáng kể đa dạng và cấu trúc hệ vi sinh vật đường ruột. Nhóm PC300 có đa dạng alpha cao nhất, phản ánh hệ vi sinh vật phong phú và ổn định hơn, trong khi PC150 có chỉ số thấp hơn, cho thấy liều thấp chưa đủ để điều chỉnh cấu trúc vi sinh vật [230]. Phân tích PCoA về đa dạng beta ghi nhận PC300 phân tách rõ với PC150 và PCDC, chứng tỏ liều cao tác động mạnh đến cộng đồng vi sinh vật, trong khi PC150 gần với PCDC hơn, thể hiện sự biến đổi nhẹ.

Ở cấp ngành, PC300 có sự gia tăng phong phú nhóm *Firmicutes*, tỷ lệ *Firmicutes/Bacteroidota* cùng với giảm *Proteobacteria*, tương ứng tăng khả năng hấp thu năng lượng, dẫn đến tăng trọng [217]. Tương tự, nghiên cứu bổ sung chất xơ đậu nành trong 8 tuần đã gia tăng đáng kể độ phong phú của *Firmicutes*, tỷ lệ *Firmicutes/Bacteroidetes*, kích thích chuột tăng cường thu nhận nhiều năng lượng hơn từ chế độ ăn và phát triển nhanh hơn, dẫn đến tăng trọng lượng cơ thể đáng kể [219]. Ngược lại, nhóm PC150 ghi nhận sự gia tăng của *Proteobacteria* và *Actinobacteriota*, với tỷ lệ *Firmicutes/Bacteroidetes* thấp hơn so với PCDC, phản ánh xu hướng kiểm soát trọng lượng. Giống với nghiên cứu trước đây, bổ sung chiết xuất hạt *Moringa oleifera* trong 12 tuần đã làm giảm *Bacteroidetes* và tăng *Proteobacteria*, tương ứng có biểu hiện giảm béo phì, cải thiện dung nạp glucose, tăng tiêu hao năng lượng, dẫn đến giảm trọng lượng cơ thể [218]. Đối chứng PCDC duy trì hệ vi sinh vật ổn định với *Firmicutes* (56,36%), *Bacteroidota* (14,7%) và *Proteobacteria* (10,5%), phản ánh trạng thái cân bằng sinh lý giữa hấp thu năng lượng và bảo vệ niêm mạc ruột. *Actinobacteriota* ở mức tương đương PC150 (11,11%), gợi ý vai trò duy trì chức năng enzyme và tổng hợp vitamin. Mặc dù *Proteobacteria* ở PCDC không vượt ngưỡng bất thường, sự hiện diện tương đối vẫn cho thấy nguy cơ viêm nhẹ tiềm ẩn trong trạng thái bình thường. PCDC là nền so sánh sinh học quan trọng, giúp xác định rõ tác động liều phụ thuộc của BLL.

Ở cấp họ và chi, sự thay đổi phụ thuộc liều rõ rệt. PC150 ưu thế *Lactobacillaceae*, *Enterobacteriaceae* và các chi *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* – những lợi khuẩn hỗ trợ hàng rào niêm mạc ruột, ức chế vi khuẩn gây bệnh và cải thiện miễn dịch [231,232]. Một số chủng *Lactobacillus* như *L. reuteri* còn có khả năng điều hòa chuyển hóa lipid, ức chế tích tụ mỡ, giảm hấp thu chất béo và chống tăng trọng thông qua bất hoạt muối mật [221]. Liều này tương ứng xu hướng kiểm soát trọng lượng thông qua điều hòa chuyển hóa lipid

và giảm hấp thu chất béo. Trong khi đó, PC300 làm phong phú *Lachnospiraceae*, *Desulfovibrionaceae* và các chi *Lachnospiraceae* NK4A136, UCG-006, FCS020 group – những vi khuẩn sinh acetic acid (một SCFA thúc đẩy tăng trọng và điều hòa chuyển hóa năng lượng) [220,225,226]. Các SCFA như acetic acid được xem là cầu nối sinh học giữa hệ vi sinh vật đường ruột và mô cơ xương, với vai trò điều hòa chuyển hóa và tổng hợp cơ [233]. Ngoài ra, nhóm PC300 còn ghi nhận mức độ cao của *Erysipelotrichaceae* và *Ruminococcaceae* – các nhóm vi khuẩn đã được chứng minh có mối tương quan nghịch với tỷ lệ chuyển đổi thức ăn (Feed conversion rate - FCR) [234], tương ứng làm tăng hiệu quả hấp thu và chuyển hóa dinh dưỡng, gợi ý vai trò prebiotic của BLL trong tối ưu hiệu suất hấp thu năng lượng. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong chăn nuôi, nơi tối ưu FCR là mục tiêu then chốt để tăng hiệu quả sản xuất. Do đó, các nhóm vi khuẩn trên có tiềm năng được phát triển như nguồn probiotic ứng viên nhằm tăng cường hiệu suất tăng trưởng ở gia cầm, cá và tôm. Nhóm PCDC duy trì mức độ trung bình của các nhóm vi khuẩn này, chứng minh rằng BLL là yếu tố chính định hình lại cấu trúc vi sinh vật.

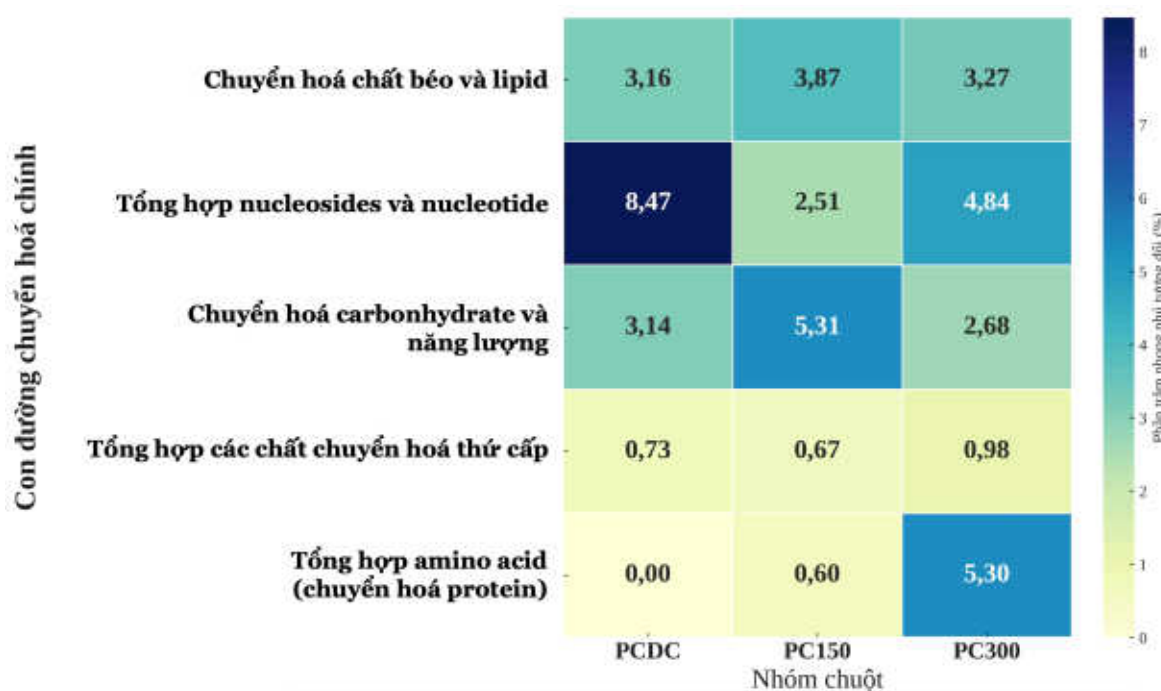
Tóm lại, BLL điều chỉnh hệ vi sinh vật theo hướng phụ thuộc liều: liều thấp (150 mg/kg) ưu tiên lợi khuẩn kiểm soát tăng trọng và tăng cường miễn dịch, trong khi liều cao (300 mg/kg) thúc đẩy vi khuẩn sinh SCFA, cải thiện hiệu suất chuyển hóa năng lượng và tăng hấp thu. Những kết quả này cung cấp cơ sở sinh học cho việc ứng dụng BLL vào các mục tiêu sức khỏe hoặc dinh dưỡng khác nhau.

#### **3.5.2.4. Dự đoán chức năng hệ vi sinh vật đường ruột**

Bổ sung BLL làm thay đổi đáng kể hệ vi sinh vật đường ruột, kéo theo sự dịch chuyển các con đường chuyển hóa chính. Dựa trên 20 con đường có mức biểu hiện cao nhất (KO, EC, MetaCyc), cả ba nhóm đều duy trì hoạt động mạnh ở các trục chuyển hóa lipid, carbohydrate, protein và nucleic acid (Bảng P2.14). Tuy nhiên, mức độ biểu hiện chức năng khác biệt rõ theo liều (Hình 3.44).

Nhóm PC150 tăng cường các con đường phân giải carbohydrate và lipid như phân giải sucrose, đường phân, lên men lactic đồng hình, kéo dài chuỗi fatty acid, tổng hợp phospholipid và hô hấp hiếu khí. Các enzyme chủ chốt liên quan đến oxy hóa chất béo (acyl-CoA oxidase, acyl-CoA dehydrogenase, 3-hydroxybutyryl-CoA epimerase, triacylglycerol lipase và phospholipase (carboxylesterase), biểu hiện mạnh, thúc đẩy tiêu hao năng lượng và kiểm soát trọng lượng (Bảng P2.15 và 16). Ngoài ra, các gen liên quan đến phân giải lipid (glycerol dehydrogenase, glycerol oxidase, glycerol acyltransferase,

triacylglycerol lipase, diacylglycerol kinase) biểu hiện cao hơn so với các nhóm khác (Bảng P2.17), trong khi các con đường liên quan đến tổng hợp chất béo gồm sinh tổng hợp CDP-diacylglycerol và sinh tổng hợp phosphatidylglycerol và các enzyme liên quan như glycerol kinase (phosphotransferase) tham gia vào quá trình tổng hợp triglyceride và glycerophospholipid, có biểu hiện giảm ở nhóm chuột tiêu thụ liều 150 mg/kg (Bảng P2.18). Điều này phản ánh tác dụng điều hòa chuyển hóa lipid (thúc đẩy quá trình oxy hóa chất béo, tiêu hao năng lượng) của BLL liều thấp.



**Hình 3.44. Mức độ biểu hiện các con đường chuyển hoá chính (KEGG Metacyc) cao nhất giữa các nhóm chuột**

Nhóm PC300 ưu tiên các con đường tổng hợp amino acid, đặc biệt là L-isoleucine, L-valine và siêu tổng hợp amino acid chuỗi nhánh – đóng vai trò thiết yếu trong sinh trưởng và chuyển hóa của vật chủ [235]. Biểu hiện các con đường này tương quan thuận với BMI và tăng trọng, gắn với sự phong phú của *Lachnospiraceae* và *Ruminococcus* [225,235]. Nghiên cứu trước đây trên heo con cũng ghi nhận việc bổ sung chiết xuất thực vật giúp gia tăng mức độ sản xuất các amino acid từ hệ vi sinh, cải thiện hiệu suất trọng lượng [236]. Kết quả này phù hợp với thành phần hệ vi sinh vật của nhóm PC300, trong đó các thành viên thuộc *Lachnospiraceae* chiếm ưu thế và có liên quan đến khả năng tổng hợp SCFA và amino acid – yếu tố thúc đẩy tăng trưởng.

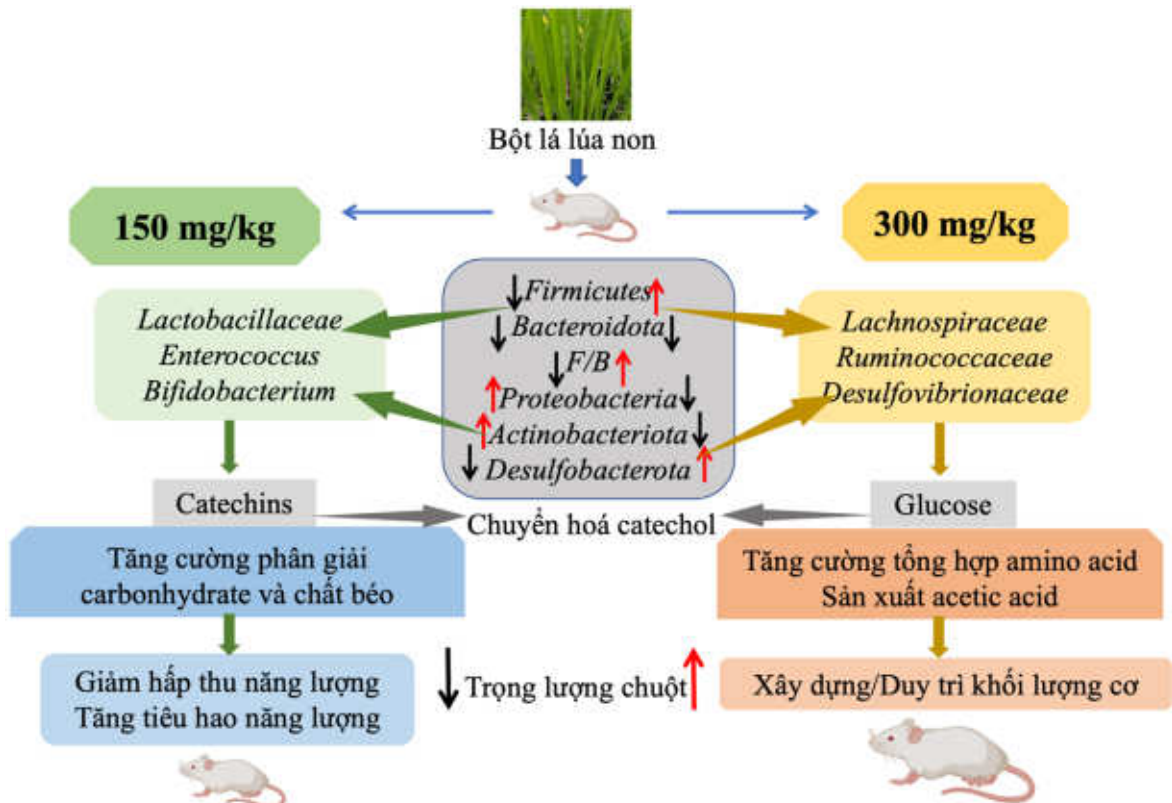
Ở nhóm đối chứng (PCDC), các con đường chức năng có mức biểu hiện tương đối trung gian, với xu hướng ưu tiên tổng hợp nucleic acid và glucose hơn

là tổng hợp amino acid hoặc phân giải lipid. Điều này phản ánh trạng thái cân bằng và sinh lý nền ổn định của cộng đồng vi sinh vật chưa bị can thiệp.

Đặc biệt, phân tích KEGG Metacyc phát hiện sự khác biệt trong con đường chuyển hóa catechol giữa các nhóm, tương ứng phản ánh cơ chế sử dụng catechin trong BLL phụ thuộc vào hệ vi sinh vật. Ở liều 150 mg/kg, biểu hiện gen liên quan đến chuyển hóa catechol từ polyphenol (catechin) tăng cao (Bảng P2.19), tương ứng với sự hiện diện phong phú của các chi *Lactobacillus*, *Acinetobacter* và *Bifidobacterium* – là các vi khuẩn được biết có khả năng lên men catechin [237]. Trong khi đó, nhóm PC300 và PCDC biểu hiện cao hơn con đường chuyển hóa catechol từ glucose thông qua con đường 3-dehydroquinone (Bảng P2.20), liên quan đến các chi *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Enterobacter* [238].

Catechol là chất chống oxy hóa mạnh, có vai trò trung gian điều hòa tín hiệu insulin và chuyển hóa carbohydrate [237]. Sự ưu tiên con đường phân giải catechin thành catechol ở PC150 có thể góp phần làm giảm hấp thu glucose, tăng tiêu hao năng lượng và kiểm soát trọng lượng – phù hợp với biểu hiện mạnh của các gen thủy phân glucose và lipid. Ngược lại, con đường tổng hợp catechol từ glucose ở PC300 và PCDC phản ánh xu hướng chuyển hóa nội sinh từ dinh dưỡng cơ bản.

Về mặt chức năng vi sinh vật, nhóm PC300 vượt trội với sự phong phú của *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Desulfovibrio*, *Oscillospiraceae* và *Roseburia* – các vi khuẩn sinh fatty acid chuỗi ngắn (SCFA) giúp duy trì hàng rào niêm mạc, điều hòa miễn dịch và cân bằng nội môi glucose [239,240]. *Lachnospiraceae* NK4A136 group có khả năng bảo vệ biểu mô ruột, cải thiện viêm và nâng cao hiệu suất tăng trưởng [241]. Một số thành viên *Lachnospiraceae* như *Blautia producta* và *Clostridium bolteae* hỗ trợ kháng khuẩn, loại trừ *Enterococci* gây bệnh [242], song một số chủng khác như *Blautia*, *Coprococcus*, *Dorea* và *Roseburia* được ghi nhận có liên quan với béo phì và tiểu đường, cho thấy vai trò của họ này vẫn còn gây tranh cãi [243]. Nhóm PC300 cũng ghi nhận mức cao của *Desulfovibrio vulgaris* – một loài có khả năng cải thiện gan nhiễm mỡ không do rượu [244], cùng *Ruminococcaceae* và *Roseburia*, các vi khuẩn sinh butyrate có vai trò nuôi dưỡng tế bào biểu mô ruột, bảo vệ khỏi viêm và ung thư đại tràng [245]. *Oscillospiraceae* là chỉ dấu hệ vi sinh khỏe mạnh [246], trong khi *Lactococcus* tiết peptide kháng khuẩn và acid hữu cơ, duy trì cân bằng nội môi ruột [247].



**Hình 3.45. Mô tả sự khác biệt trong thành phần hệ vi sinh đường ruột và con đường chuyển hóa ở chuột được bổ sung BLL**

Bổ sung BLL 150 mg/kg làm tăng rõ rệt *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* và *Enterococcus* – các chủng đã được chứng minh cải thiện hội chứng ruột kích thích, viêm ruột, dị ứng, kháng khuẩn và chống ung thư [248,249]. *Bifidobacterium* còn tổng hợp vitamin nhóm B giúp hỗ trợ hoạt động tiêu hóa [249], trong khi nhiều chủng LAB tạo bacteriocin có tác dụng điều hòa miễn dịch [250]. Bên cạnh đó, liều 150 mg/kg cũng ghi nhận sự phong phú cao của *Rikenellaceae* - liên quan trạng thái chuyển hóa lành mạnh [251] và hai nhóm vi khuẩn *Streptococcus* và *Staphylococcus* - góp phần cân bằng miễn dịch [252].

Tổng thể, PC150 thể hiện cấu trúc vi sinh vật điều hòa miễn dịch và chuyển hóa năng lượng cân bằng, hỗ trợ kiểm soát trọng lượng, phù hợp sinh lý nhóm chuột có tốc độ tăng trưởng thấp. Trong khi đó, PC300 ưu tiên vi khuẩn sinh SCFA thúc đẩy hấp thu năng lượng và tăng trọng. Mô hình tác động của BLL lên hệ vi sinh vật đường ruột và các con đường chuyển hóa liên quan được minh họa trong Hình 3.45.

Tóm lại, BLL an toàn trên mô hình chuột, không gây tổn thương huyết học hay mô học, đồng thời điều hòa hệ vi sinh vật đường ruột theo hướng có lợi. Liều 150 mg/kg tối ưu để tăng sinh *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* và *Enterococcus*, hỗ trợ miễn dịch và kiểm soát trọng lượng. Ngược lại, liều 300 mg/kg làm phong

phú các vi khuẩn sinh SCFA như *Lachnospiraceae* và *Ruminococcaceae*, thúc đẩy hấp thu năng lượng và tăng trưởng. Phân tích chức năng vi sinh vật cho thấy liều thấp tăng cường phân giải carbohydrate và lipid, trong khi liều cao ưu tiên tổng hợp amino acid chuỗi nhánh. Kết quả khẳng định BLL có tiềm năng sinh học, có thể ứng dụng linh hoạt cho các mục tiêu sức khỏe hoặc tăng trưởng tùy liều bổ sung.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã cung cấp bằng chứng thực nghiệm rõ ràng về giá trị sinh học và tiềm năng ứng dụng của bột cao chiết lá lúa non (BLL) từ giống IR50404. Lá lúa thu hoạch ở tuần thứ 5 trong điều kiện không che sáng mang lại hàm lượng chlorophyll và polyphenol cao nhất, tương ứng với hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Quy trình chế biến tối ưu bao gồm chần ở 100°C trong 4 phút, chiết bằng ethanol 60% với tỷ lệ 10:1 và sấy phun ở 120°C giúp bảo toàn tối đa các hợp chất sinh học. Sản phẩm đạt độ ổn định cao nhất khi bảo quản ở nhiệt độ 5°C hoặc -18°C.

Về mặt sinh học, BLL thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh với giá trị  $IC_{50}$  dao động từ 36,67 đến 80,9 mg/mL. Đồng thời, sản phẩm cũng có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) từ 3939 đến 4787 µg/mL và kháng nấm *Candida albicans* ở mức MIC >8000 µg/mL.

Phân tích thành phần hóa học của lá lúa tuần 5 có sự hiện diện đa dạng các hợp chất hoạt tính sinh học. Dựa trên đó, nghiên cứu đề xuất cơ chế tái sử dụng phytol từ quá trình phân hủy chlorophyll để tổng hợp fatty acid, vitamin E và chlorophyll mới, đồng thời mô tả khả năng điều chỉnh chuyển hóa thích nghi của cây lúa trong điều kiện che sáng.

BLL có tác động đáng kể đến cấu trúc và chức năng hệ vi sinh vật đường ruột trên mô hình chuột, tác động này phụ thuộc vào liều lượng. Ở liều 150 mg/kg, BLL làm tăng sự hiện diện của *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* và *Enterococcus*, đồng thời thúc đẩy biểu hiện các gen liên quan đến phân giải glucose, lipid và chuyển hóa catechol từ catechin, giúp kiểm soát tăng trọng và tăng tiêu hao năng lượng. Trong khi đó, liều 300 mg/kg làm tăng đáng kể các nhóm *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* và *Desulfovibrio*, có liên quan đến quá trình tổng hợp amino acid mạch nhánh và thúc đẩy tích lũy khối lượng cơ. Hiệu quả phụ thuộc vào liều lượng chứng tỏ vai trò thiết yếu của việc lựa chọn mức bổ sung phù hợp để đạt được hiệu quả dinh dưỡng và sinh lý tối ưu.

### KIẾN NGHỊ

Trên cơ sở các kết quả đạt được, bột cao chiết lá lúa có tiềm năng ứng dụng trong các lĩnh vực thực phẩm chức năng, phụ gia chăn nuôi và khai thác tài nguyên

nông nghiệp bền vững. Tuy nhiên, một số khía cạnh vẫn cần được hoàn thiện và mở rộng trong các nghiên cứu tiếp theo.

Đối với quy trình thu nhận bột, cần bổ sung đánh giá hiệu suất thu hồi và các chỉ tiêu công nghệ như độ ẩm, kích thước hạt và độ hòa tan, nhằm hoàn thiện quy trình ở quy mô ứng dụng và bảo đảm tính ổn định của sản phẩm.

Trong nghiên cứu hoạt tính sinh học và lợi khuẩn, cần kéo dài thời gian can thiệp, bổ sung phân tích hệ vi sinh vật trước xử lý, và chuyển sang lấy mẫu phân đơn thay cho mẫu gộp để phản ánh biến thiên cá thể chính xác hơn. Đồng thời, nên kết hợp phân tích các chỉ số hóa sinh và chuyển hóa năng lượng nhằm đánh giá toàn diện tác động sinh hoá của BLL.

Kết quả bước đầu cho thấy bổ sung BLL ở liều 300 mg/kg giúp cải thiện cấu trúc hệ vi sinh vật và tăng trọng ở chuột, gợi mở tiềm năng ứng dụng như một phụ gia prebiotic tự nhiên cho gia cầm và gia súc trong chăn nuôi. Tuy nhiên, để xác nhận tính ứng dụng thực tiễn, cần nghiên cứu bổ sung trên vật nuôi thực tế, đồng thời đánh giá các chỉ tiêu chuyển hóa năng lượng, hấp thu dinh dưỡng và hiệu suất tăng trưởng.

## DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Nguyen, Thi To Uyen**, Nguyen, Phu Tho, Nguyen, Thi Tho, Nguyen, Thi Phuong Thao, and Nguyen, Huu Thanh. (2024) Rice leaves or ricegrass-available biomaterial with potential biological activities for different industrial applications: a review. *Discover Food*. 4 (1), 106.
2. **Nguyen, Thi To Uyen**, Nguyen, Phu Tho, Nguyen, Thi Tho, Nguyen, Thi Phuong Thao, Dang, Chi Thien, and Nguyen, Huu Thanh. (2024) Phytochemical profile, antioxidant and antibacterial activities of the ethanolic rice (*Oryza sativa*) leaf extract. *Vegetos*. doi.org.10.1007/s42535-024-01142-5.
3. Nguyen, Phu Tho, **Nguyen, Thi To Uyen**, Nguyen, Thi Phuong Thao, and Nguyen, Huu Thanh. (2024) Bioactive compounds and their antioxidant activities in the ethanol extract from rice leaves (*Oryza sativa* L.) of different varieties. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 8 (5), 7196–7200.
4. Nguyen, Phu Tho, **Nguyen, Thi To Uyen**, Nguyen, Thi Phuong Thao, Nguyen, Huu Thanh, Dang, Chi Thien, Pham, Minh Nhut, Nguyen, Thi Tho. (2024) Insights into the metabolism of rice leaves (*Oryza sativa* L.) under shade stress by investigating the metabolite profile using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. *Russian Journal of Plant Physiology*. 71 (4), 126.
5. **Thi-To-Uyen Nguyen**, Phu-Tho Nguyen, Minh-Nhut Pham, Thi-Phuong-Thao Nguyen, Thanh-Thai Tran, Huu-Thanh Nguyen, Thi-Tho Nguyen. (2025) Uncovering metabolite changes in rice leaves (*Oryza sativa* L.) during vegetative stages using ethanolic extract analysis based on gas chromatography-mass spectrometry. *Agriculture and Natural Resources*. 59 (3), 590312.
6. **Nguyễn Thị Tố Uyên**, Nguyễn Phú Thọ, Nguyễn Hữu Thanh, Đặng Chí Thiện, and Nguyễn Thị Phương Thảo. (2022) Đánh giá sự thay đổi hàm lượng các hoạt chất sinh học và khả năng chống oxy hoá của bột lá lúa non (*Oryza sativa*) trong quá trình chế biến. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*. 18 (5+6), 10–19.
7. **Nguyễn Thị Tố Uyên**, Nguyễn Phú Thọ, Nguyễn Hữu Thanh, Đặng Chí Thiện, and Nguyễn Thị Phương Thảo. (2024) Ảnh hưởng của điều kiện che sáng và thời điểm thu hoạch lá lên hàm lượng chlorophyll, polyphenol và hoạt tính kháng nấm *Candida* của dịch chiết lá lúa (*Oryza sativa* L.). *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*. 20 (4), 60–71.

### DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ito, V.C. and Lacerda, L.G. (2019) Black rice (*Oryza sativa* L.): A review of its historical aspects, chemical composition, nutritional and functional properties, and applications and processing technologies. *Food Chemistry*. 301 125304.
- [2] Tho, L.C.B. and Umetsu, C. (2022) Rice variety and sustainable farming: A case study in the Mekong Delta, Vietnam. *Environmental Challenges*. 8 100532.
- [3] Deshwal, V.K. and Deepshikha, D. (2018) Antimicrobial investigation of wheat grass (*Triticum aestivum* L.) against *Escherichia coli*. *European Journal of Molecular Biology and Biochemistry*. 5 (1), 9–12.
- [4] Avisar, A., Cohen, M., Katz, R., Shentzer Kutiel, T., Aharon, A., and Bar-Sela, G. (2020) Wheatgrass juice administration and immune measures during adjuvant chemotherapy in colon cancer patients: Preliminary results. *Pharmaceuticals*. 13 (6), 129.
- [5] Borkar, S. (2021) Product development of wheat grass powder and its nutritional analysis. *International Journal of Multidisciplinary Education Research*. 10 (4), 114–116.
- [6] Chomchan, R., Siripongvutikorn, S., Puttarak, P., and Rattanapon, R. (2016) Investigation of phytochemical constituents, phenolic profiles and antioxidant activities of ricegrass juice compared to wheatgrass juice. *Functional Foods in Health and Disease*. 6 (12), 822.
- [7] Wangcharoen, W. and Phimphilai, S. (2016) Chlorophyll and total phenolic contents, antioxidant activities and consumer acceptance test of processed grass drinks. *Journal of Food Science and Technology*. 53 (12), 4135–4140.
- [8] Thepthanee, C., Liu, C.C., Yu, H.S., Huang, H.S., Yen, C.H., Li, Y.H., et al. (2021) Evaluation of phytochemical contents and *in vitro* antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of black rice leaf (*Oryza sativa* L.) extract and its fractions. *Foods*. 10 (12), 2987.
- [9] Yang, C., Shen, S., Zhou, S., Li, Y., Mao, Y., Zhou, J., et al. (2022) Rice metabolic regulatory network spanning the entire life cycle. *Molecular Plant*. 15 (2), 258–275.
- [10] Ishikawa, R., Castillo, C.C., and Fuller, D.Q. (2020) Genetic evaluation of domestication-related traits in rice: implications for the archaeobotany of rice origins. *Archaeological and Anthropological Sciences*. 12 (8), 197.
- [11] Sangeetha, J., Thangadurai, D., Fayeun, L.S., Akinwale, J.A., Habeeb, J., Maxim, S.S., et al. (2020) Origin and evolution of rice as domesticated food crop. in: A. Roychoudhury (Ed.), *Rice Research for Quality Improvement*:

- Genomics and Genetic Engineering: Volume 1: Breeding Techniques and Abiotic Stress Tolerance, Springer, Singaporepp. 1–14.
- [12] World Agricultural Production (2023) Rice Production by Country | World Agricultural Production 2023/2024.
- [13] Nghị Quyết Quốc Hội (2021) Nghị quyết 39/2021/QH15 về quy hoạch sử dụng đất quốc gia thời kỳ 2021 - 2030, tầm nhìn đến năm 2050, kế hoạch sử dụng đất quốc gia 5 năm 2021 - 2025.
- [14] Statista (2024) Vietnam: Rice production in the Mekong Delta 2024. *Statista*.
- [15] Khanh, T.D., Duong, V.X., Nguyen, P.C., Xuan, T.D., Trung, N.T., Trung, K.H., et al. (2021) Rice breeding in Vietnam: Retrospects, challenges and prospects. *Agriculture*. 11 (5), 397.
- [16] Lai, D.Q., Ngo, T.A., Nguyen, Q.L., Nguyen, H.D., and Pham, D.T. (2022) Physical and chemical properties of rice varieties grown in Mekong Delta. *Vietnam Journal of Science and Technology*. 60 (5), 767–784.
- [17] IRRI (2024) Crop calendar - IRRI Rice Knowledge Bank.
- [18] Nawaz, A. and Farooq, M. (2017) Rice physiology. in: B.S. Chauhan, K. Jabran, G. Mahajan (Eds.), *Rice Production Worldwide*, Springer International Publishing, Champp. 455–485.
- [19] Hussain, S., Khaliq, A., Ali, B., Hussain, H.A., Qadir, T., and Hussain, S. (2019) Temperature extremes: Impact on rice growth and development. in: M. Hasanuzzaman, K.R. Hakeem, K. Nahar, H.F. Alharby (Eds.), *Plant Abiotic Stress Tolerance: Agronomic, Molecular and Biotechnological Approaches*, Springer International Publishing, Champp. 153–171.
- [20] Phuoc, L.H., Suliansyah, I., Arlius, F., Chaniago, I., Xuan, N.T.T., and Quan, P.V. (2022) Responses of growth and grain yield of IR50404 rice to temperature stress. *International Journal of Agricultural Sciences*. 6 (1), 9–18.
- [21] Lam T.G., Pham Q.N., and Do T.K. (2015) Đa dạng dấu phân tử indel của các dòng lúa thơm ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 38 (2), 23–29.
- [22] Ta H.L. and Chu D.H. (2022) Study on the cultivation practices for “Huyet Rong” herbal rice variety in Quang Tri province. *TNU Journal of Science and Technology*. 227 (01), 3–9.
- [23] Chomchan, R., Siripongvutikorn, S., Maliyam, P., Saibandith, B., and Puttarak, P. (2018b) Protective effect of selenium-enriched ricegrass juice against cadmium-induced toxicity and DNA damage in HEK293 kidney cells. *Foods*. 7 (6), 81.
- [24] Chomchan, R., Puttarak, P., Brantner, A., and Siripongvutikorn, S. (2018a) Selenium-rich ricegrass juice improves antioxidant properties and nitric oxide inhibition in macrophage cells. *Antioxidants*. 7 (4), 57.

- [25] Thepthanee, C., Liu, C.C., Yu, H.S., Huang, H.S., Yen, C.H., Li, Y.H., et al. (2022) Antioxidant activity and inhibitory effects of black rice leaf on the proliferation of human carcinoma cells. *BioMed Research International*. 2022 1–17.
- [26] Khanthapok, P., Muangprom, A., and Sukrong, S. (2015) Antioxidant activity and DNA protective properties of rice grass juices. *ScienceAsia*. 41 (2), 119.
- [27] Yao, W., Gong, Y., Li, L., Hu, X., and You, L. (2022) The effects of dietary fibers from rice bran and wheat bran on gut microbiota: An overview. *Food Chemistry: X*. 13 100252.
- [28] Swann, O.G., Kilpatrick, M., Breslin, M., and Oddy, W.H. (2020) Dietary fiber and its associations with depression and inflammation. *Nutrition Reviews*. 78 (5), 394–411.
- [29] Tamprasit, K., Weerapreeyakul, N., Sutthanut, K., Thukhammee, W., and Wattanathorn, J. (2019) Harvest age effect on phytochemical content of white and black glutinous rice cultivars. *Molecules*. 24 (24), 4432.
- [30] Sakulnarmrat, K., Dalar, A., Sukru Bengu, A., and Konczak, I. (2018) Phytochemical composition and health-enhancing properties of *Oryza sativa* L. leaf tea. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*. 5 (6), 1–11.
- [31] Kusumah, D., Wakui, M., Murakami, M., Xie, X., Yukihito, K., and Maeda, I. (2020) Linoleic acid,  $\alpha$ -linolenic acid, and monolinolenins as antibacterial substances in the heat-processed soybean fermented with *Rhizopus oligosporus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 84 (6), 1285–1290.
- [32] Barbacariu, C.A., Burducea, M., Dirvariu, L., Oprea, E., Lupu, A.C., Teliban, G.C., et al. (2021) Evaluation of diet supplementation with wheat grass juice on growth performance, body composition and blood biochemical profile of Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animals*. 11 (9), 2589.
- [33] Cuong, D.X. (2020) Antioxidant chlorophyll purification from maize leaves by liquid-to-liquid extraction method. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10 (3), 152–158.
- [34] Li, Y., Cui, Y., Lu, F., Wang, X., Liao, X., Hu, X., et al. (2019) Beneficial effects of a chlorophyll-rich spinach extract supplementation on prevention of obesity and modulation of gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *Journal of Functional Foods*. 60 103436.
- [35] Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., and Restani, P. (2021) Polyphenols and human health: The role of bioavailability. *Nutrients*. 13 (1), 273.
- [36] Phonsakhan, W. and Kong, N.K. (2015) A comparative proteomic study of white and black glutinous rice leaves. *Electronic Journal of Biotechnology*. 18 (1), 29–34.

- [37] Adhikary, M., Mukhopadhyay, K., and Sarkar, B. (2021) Flavonoid-rich wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) diet attenuates diabetes by modulating antioxidant genes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Food Biochemistry*. 45 (4), e13643.
- [38] Eissa, H.A., Mohamed, S.S., and Hussein, A.M.S. (2020) Nutritional value and impact of wheatgrass juice (Green blood therapy) on increasing fertility in male albino rats. *Bulletin of the National Research Centre*. 44 (1), 30.
- [39] Phimphilai, S., Koonyosying, P., Hutachok, N., Kampoun, T., Daw, R., Chaiyasut, C., et al. (2021) Identifying chemical composition, safety and bioactivity of Thai rice grass extract drink in cells and animals. *Molecules*. 26 (22), 6887.
- [40] Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., and Lim, S.M. (2017) Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*. 61 (1), 1361779.
- [41] Semaming, Y., Pannengpetch, P., Chattipakorn, S.C., and Chattipakorn, N. (2015) Pharmacological properties of protocatechuic acid and its potential roles as complementary medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015 593902.
- [42] Brimson, J.M., Onlamoon, N., Tencomnao, T., and Thitilertdecha, P. (2019) *Clerodendrum petasites* S. Moore: The therapeutic potential of phytochemicals, hispidulin, vanillic acid, verbascoside, and apigenin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 118 109319.
- [43] Ganeshpurkar, A. and Saluja, A.K. (2017) The pharmacological potential of rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 25 (2), 149–164.
- [44] Roland, B., Bernard, G.C., Fernand, G., and Coffi, A.A. (2017) Phytochemical screening and quantitative variation of some secondary metabolites in five cultivated rice varieties. *Journal of Applied Biosciences*. 113 11146–11157.
- [45] Du, S., Huang, X., Cai, Y., Hao, Y., Qiu, S., Liu, L., et al. (2021) Differential antioxidant compounds and activities in seedlings of two rice cultivars under chilling treatment. *Frontiers in Plant Science*. 12 631421.
- [46] Nayeem, S., Venkidasamy, B., Sundararajan, S., Kuppuraj, S.P., and Ramalingam, S. (2021) Differential expression of flavonoid biosynthesis genes and biochemical composition in different tissues of pigmented and non-pigmented rice. *Journal of Food Science and Technology*. 58 (3), 884–893.
- [47] Kumbar, M., Mirajkar, K.K., and Arvind, K. (2021) Phytochemical response in rice (*Oryza sativa* L.) genotype during the vegetative and reproductive stage under drought stress and non-stress conditions. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 30 (1), 1–12.

- [48] Dong, X., Chen, W., Wang, W., Zhang, H., Liu, X., and Luo, J. (2014) Comprehensive profiling and natural variation of flavonoids in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*. 56 (9), 876–886.
- [49] Mollaei, S., Hazrati, S., Lotfizadeh, V., Dastan, D., and Asgharian, P. (2020) Phytochemical variation and biological activities of *Zosima absinthifolia* during various stages of growth. *International Journal of Food Properties*. 23 (1), 1556–1567.
- [50] Song, H.H., Ryu, H.W., Lee, K.J., Jeong, Y., Kim, D.S., and Oh, S.R. (2014) Metabolomics investigation of flavonoid synthesis in soybean leaves depending on the growth stage. *Metabolomics*. 10 (5), 833–841.
- [51] Niroula, A., Khatri, S., Khadka, D., and Timilsina, R. (2019a) Total phenolic contents and antioxidant activity profile of selected cereal sprouts and grasses. *International Journal of Food Properties*. 22 (1), 427–437.
- [52] Bian, Z.H., Yang, Q.C., and Liu, W.K. (2015) Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95 (5), 869–877.
- [53] Stirbet, A., Lazár, D., Guo, Y., and Govindjee, G. (2020) Photosynthesis: basics, history and modelling. *Annals of Botany*. 126 (4), 511–537.
- [54] Wimalasekera, R. (2019) Effect of light intensity on photosynthesis. in: *Photosynthesis, Productivity and Environmental Stress*, John Wiley & Sons, Ltd, pp. 65–73.
- [55] Cui, L., Gao, R., Dong, S., Zhang, J., Liu, P., Zhang, H., et al. (2012) Effects of ear shading on the anthocyanin contents and quality of kernels in various genotypes of maize. *Australian Journal of Crop Science*. 6 (4), 704–710.
- [56] Idris, A., Linatoc, A.C., Bakar, M.F.A., Ibrahim, Z.T., and Audu, Y. (2018) Effect of light quality and quantity on the accumulation of flavonoid in plant species. *Journal of Science and Technology*. 10 (3), 32–45.
- [57] Wang, D., Yang, T., Li, Y., Deng, F., Dong, S., Li, W., et al. (2022) Light intensity-A key factor affecting flavonoid content and expression of key enzyme genes of flavonoid synthesis in Tartary buckwheat. *Plants*. 11 (16), 2165.
- [58] Ye, J.H., Lv, Y.Q., Liu, S.R., Jin, J., Wang, Y.F., Wei, C.L., et al. (2021) Effects of light intensity and spectral composition on the transcriptome profiles of leaves in shade grown tea plants (*Camellia sinensis* L.) and regulatory network of flavonoid biosynthesis. *Molecules*. 26 (19), 5836.
- [59] Karimi, E., Jaafar, H.Z.E., Ghasemzadeh, A., and Ibrahim, M.H. (2013) Light intensity effects on production and antioxidant activity of flavonoids and phenolic compounds in leaves, stems and roots of three varieties of *Labisia pumila* Benth. *Australian Journal of Crop Science*. 7 (7), 1016–1023.

- [60] Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., and Zhang, Y. (2022) A brief review of phenolic compounds identified from plants: their extraction, analysis, and biological activity. *Natural Product Communications*. 17 (1), 1–14.
- [61] Radoeva, R., Karsheva, M., and Enchev, B. (2022) Extraction of valuable components from winery's by-products through soxhlet extraction: Effect of operational parameters on product yield and quality. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 57 (2), 271–278.
- [62] Zeroual, A., Sakar, E.H., Mahjoubi, F., Chaouch, M., Chaqroune, A., and Taleb, M. (2022) Effects of extraction technique and solvent on phytochemicals, antioxidant, and antimicrobial activities of cultivated and wild Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Taounate region (Northern Morocco). *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12 (6), 8441–8452.
- [63] Ermi, N.P.H., Fatmawati, S., and Asri, A.W. (2021) The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 755 (1), 012060.
- [64] Berwal, M., Haldhar, S., Ram, C., Shil, S., and Gora, J.S. (2021) Effect of extraction solvent on total phenolics, flavonoids and antioxidant capacity of flower bud and foliage of *Calligonum polygonoides* L. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*. 34 61–67.
- [65] Iqbal, A., Murtaza, A., Hu, W., Ahmad, I., Ahmed, A., and Xu, X. (2019) Activation and inactivation mechanisms of polyphenol oxidase during thermal and non-thermal methods of food processing. *Food and Bioproducts Processing*. 117 170–182.
- [66] Selvarajan, E., Veena, R., and Manoj Kumar, N. (2018) Polyphenol oxidase, beyond enzyme browning. in: J. Singh, D. Sharma, G. Kumar, N.R. Sharma (Eds.), *Microbial Bioprospecting for Sustainable Development*, Springer, Singaporepp. 203–222.
- [67] Aggarwal, S. and Jain, T. (2018) Modern pretreatment techniques for phytochemical extraction. *Nutrition & Food Science*. 49 (3), 441–454.
- [68] Adetoro, A.O., Opara, U.L., and Fawole, O.A. (2021) Effect of blanching on enzyme inactivation, physicochemical attributes and antioxidant capacity of hot-air dried pomegranate (*Punica granatum* L.) Arils (cv. Wonderful). *Processes*. 9 (1), 25.
- [69] Magangana, T.P., Makunga, N.P., Fawole, O.A., and Opara, U.L. (2022) Effect of blanching pretreatment on the phytochemical properties, and bioactivities of 'Herskowitz' pomegranate peel extracts at three different harvest maturities. *Acta Horticulturae*. (1349), 619–628.

- [70] Sayed, A., Chys, M., and Sampers, I. (2023) Characterization of blanching water from the potato processing industry and the influence of processing conditions. *Journal of Cleaner Production*. 388 135977.
- [71] Nguyen, N.H.K., An, N.T.D., Anh, P.K., and Truc, T.T. (2021) Microwave-assisted extraction of chlorophyll and polyphenol with antioxidant activity from *Pandanus amaryllifolius* Roxb. in Vietnam. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 1166 (1), 012039.
- [72] Saetan, P., Usawakesmanee, W., and Siripongvutikorn, S. (2016) Influence of hot water blanching process on phenolic profile and antioxidant activity of *Cinnamomum porrectum* herbal tea. *Functional Foods in Health and Disease*. 6 (12), 836–854.
- [73] Le, N.L., Le, T.T.H., and Ma, N.B. (2021) Effects of air temperature and blanching pre-treatment on phytochemical content, antioxidant activity and enzyme inhibition activities of Thai basil leaves (*Ocimum basilicum* var. *thrysiflorum*). *Food Research*. 5 (1), 337–342.
- [74] Anaya-Esparza, L.M., Velázquez-Estrada, R.M., Sayago-Ayerdi, S.G., Sánchez-Burgos, J.A., Ramírez-Mares, M.V., García-Magaña, M. de L., et al. (2017) Effect of thermosonication on polyphenol oxidase inactivation and quality parameters of sour sop nectar. *LWT*. 75 545–551.
- [75] Xin, Y., Zhang, M., Yang, H., and Adhikari, B. (2015) Kinetics of argy wormwood (*Artemisia argyi*) leaf peroxidase and chlorophyll content changes due to thermal and thermosonication treatment. *Journal of Food Science and Technology*. 52 (1), 249–257.
- [76] Kandasamy, S. and Naveen, R. (2022) A review on the encapsulation of bioactive components using spray-drying and freeze-drying techniques. *Journal of Food Process Engineering*. 45 (8), e14059.
- [77] Bartkowiak, A., Krawczyńska, W., and Federowicz, A. (2016) Novel polymer systems and additives to protect bioactive substances applied in spray-drying. in: J.C.R. Ruiz, M.R.S. Campos (Eds.), *New Polymers for Encapsulation of Nutraceutical Compounds*, 1st ed., Wiley, pp. 97–119.
- [78] Wijayanti, N., Widyaningsih, T.D., Wulan, S.N., and Rifai, M. (2024) Influence of spray drying inlet temperature on the physical properties and antioxidant activity of black garlic extract powder. *Trends in Sciences*. 21 (2), 7247–7247.
- [79] Buratto, A.P., Carpes, S.T., Pereira, E.A., Diedrich, C., Oldoni, T.L.C., and Silva, L.D. (2019) Effect of drying method in the maintenance of bioactive compounds and antioxidant activity of Feijoa pulp (*Acca sellowiana*). *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*. 11 (6), 386–393.
- [80] Silva Júnior, M.E., Araújo, M.V.R.L., Martins, A.C.S., dos Santos Lima, M., da Silva, F.L.H., Converti, A., et al. (2023) Microencapsulation by spray-

- drying and freeze-drying of extract of phenolic compounds obtained from ciriguela peel. *Scientific Reports*. 13 (1), 15222.
- [81] Iturri, M.S., Calado, C.M.B., and Prentice, C. (2021) Microparticles of *Eugenia stipitata* pulp obtained by spray-drying guided by DSC: An analysis of bioactivity and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*. 334 127557.
- [82] Rezende, Y.R.R.S., Nogueira, J.P., and Narain, N. (2018) Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata*) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*. 254 281–291.
- [83] Tchabo, W. (2019) Process analysis of mulberry (*Morus alba*) leaf extract encapsulation: Affects of spray drying conditions on bioactive encapsulated powder quality. *Food and Bioprocess Technology*. 12 122–146.
- [84] Saavedra-Leos, M.Z., Leyva-Porras, C., Toxqui-Terán, A., and Espinosa-Solis, V. (2021) Physicochemical properties and antioxidant activity of spray-dry broccoli (*Brassica oleracea* var Italica) stalk and floret juice powders. *Molecules*. 26 (7), 1973.
- [85] Marques, T.M., Ganda-Mall, J.P., Forsgård, R., Wall, R., Brummer, R.J., and de Vos, W.M. (2024) Chapter 1 - Correlating the gut microbiome to health and disease. in: N. Hyland, C. Stanton (Eds.), *The Gut-Brain Axis* (Second Edition), Academic Press, pp. 1–36.
- [86] Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I., et al. (2018) Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*. 57 (1), 1–24.
- [87] Pérez-Burillo, S., Hinojosa-Nogueira, D., Pastoriza, S., and Rufián-Henares, J.A. (2020) Plant extracts as natural modulators of gut microbiota community structure and functionality. *Heliyon*. 6 (11), e05474.
- [88] Mandal, R.S., Saha, S., and Das, S. (2015) Metagenomic surveys of gut microbiota. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 13 (3), 148–158.
- [89] Qi, C., Wang, P., Fu, T., Lu, M., Cai, Y., Chen, X., et al. (2021) A comprehensive review for gut microbes: Technologies, interventions, metabolites and diseases. *Briefings in Functional Genomics*. 20 (1), 42–60.
- [90] Jovandaric, M.Z., Jovanović, K., Raus, M., Babic, S., Igic, T., Kotlica, B., et al. (2024) The significance of plant nutrition in the creation of the intestinal microbiota-prevention of chronic diseases: A narrative review. *Medicina*. 60 (12), 1969.
- [91] Plamada, D. and Vodnar, D.C. (2022) Polyphenols-Gut microbiota interrelationship: A transition to a new generation of prebiotics. *Nutrients*. 14 (1), 137.

- [92] Jia, M., Li, D., Wang, R., Wang, A., Strappe, P., Wu, Q., et al. (2022) Gut microbiota derived structural changes of phenolic compounds from colored rice and its corresponding fermentation property. *Food & Function*. 13 (20), 10759–10768.
- [93] Liang, J., Li, X., Lei, W., Tan, P., Han, M., Li, H., et al. (2023) Serum metabolomics combined with 16S rRNA sequencing to reveal the effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on host metabolism and gut microbiota. *Food Research International*. 165 112563.
- [94] Kasprzak-Drozd, K., Oniszczuk, T., Stasiak, M., and Oniszczuk, A. (2021) Beneficial effects of phenolic compounds on gut microbiota and metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*. 22 (7), 3715.
- [95] Song, H., Shen, X., Zhou, Y., and Zheng, X. (2021) Black rice anthocyanins alleviate hyperlipidemia, liver steatosis and insulin resistance by regulating lipid metabolism and gut microbiota in obese mice. *Food & Function*. 12 (20), 10160–10170.
- [96] Li, H., Christman, L.M., Li, R., and Gu, L. (2020) Synergic interactions between polyphenols and gut microbiota in mitigating inflammatory bowel diseases. *Food & Function*. 11 (6), 4878–4891.
- [97] Chaves, N., Santiago, A., and Alías, J.C. (2020) Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*. 9 (1), 76.
- [98] Christodoulou, M.C., Orellana Palacios, J.C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J.M., Domínguez, R., et al. (2022) Spectrophotometric methods for measurement of antioxidant activity in food and pharmaceuticals. *Antioxidants*. 11 (11), 2213.
- [99] Bibi Sadeer, N.B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., and Mahomoodally, M.F. (2020) The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*. 9 (8), 709.
- [100] Vasyliiev, G.S., Vorobyova, V.I., and Linyucheva, O.V. (2020) Evaluation of reducing ability and antioxidant activity of fruit pomace extracts by spectrophotometric and electrochemical methods. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2020 e8869436.
- [101] Moradali, M.F., Ghods, S., and Rehm, B.H.A. (2017) *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 7 39.
- [102] Crone, S., Vives-Flórez, M., Kvich, L., Saunders, A.M., Malone, M., Nicolaisen, M.H., et al. (2020) The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS*. 128 (3), 220–231.

- [103] Reynolds, D. and Kollef, M. (2021) The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: An update. *Drugs*. 81 (18), 2117–2131.
- [104] Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., and Guery, B. (2018) How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context*. 7 212527.
- [105] Bhunia, A.K. (2018) *Staphylococcus aureus*. in: A.K. Bhunia (Ed.), *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, Springer, New York, NYpp. 181–192.
- [106] Dayan, G.H., Mohamed, N., Scully, I.L., Cooper, D., Begier, E., Eiden, J., et al. (2016) *Staphylococcus aureus*: The current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. *Expert Review of Vaccines*. 15 (11), 1373–1392.
- [107] Tong, S.Y.C., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., and Fowler, V.G. (2015) *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*. 28 (3), 603–661.
- [108] Martinson, J.N.V. and Walk, S.T. (2020) *Escherichia coli* residency in the gut of healthy human adults. *EcoSal Plus*. 9 (1), 1–19.
- [109] Bonten, M., Johnson, J.R., Biggelaar, A.H.J., Georgalis, L., Geurtsen, J., Palacios, P.I., et al. (2021) Epidemiology of *Escherichia coli* bacteremia: A systematic literature review. *Clinical Infectious Diseases*. 72 (7), 1211–1219.
- [110] Pakbin, B., Brück, W.M., and Rossen, J.W.A. (2021) Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 22 (18), 9922.
- [111] Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J.R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., et al. (2016) *Escherichia coli*: An old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews*. 40 (4), 437–463.
- [112] Macias-Paz, I.U., Pérez-Hernández, S., Tavera-Tapia, A., Luna-Arias, J.P., Guerra-Cárdenas, J.E., and Reyna-Beltrán, E. (2023) *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Revista Argentina de Microbiología*. 55 (2), 189–198.
- [113] Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., et al. (2021) *Candida albicans*—the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*. 7 (2), 79.
- [114] Lopes, J.P. and Lionakis, M.S. (2022) Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*. 13 (1), 89–121.
- [115] Fan, F., Liu, Y., Liu, Y., Lv, R., Sun, W., Ding, W., et al. (2022) *Candida albicans* biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and emerging therapeutic strategies. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 60 (5), 106673.

- [116] Hui, B.Y.P., Bhawe, M., and Hwang, S.S. (2019) Potential protective effects of rice seedling extracts of a Malaysian rice variety, Biris, against doxorubicin-induced cytotoxicity. *Tropical Life Sciences Research*. 30 (2), 71–90.
- [117] Do T.K., Tran N.D., and Tran D.X. (2018) Khả năng chống oxy hóa của phân đoạn dịch chiết từ gạo mầm và gạo lức. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 60 (6), 70–72.
- [118] Hien L.T., Nhung T.T.M., Trang N.T., and Phuong Đ.M.N. (2017) Ảnh hưởng của quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa từ cây lá đắng (*Vernonia amygdalina*). *Tạp chí Khoa học Đại học Văn Hiến*. 5 (4), 93–99.
- [119] Anh V.T.T., Qui Đ.P., Thi T.T.T., and Linh T.C. (2017) Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hoá của các cao chiết từ thân và lá cây Bộ Mắm (*Pouzolzia zeylanica* L.). *Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ*. 52 (A), 29–36.
- [120] Anh, N. and Thanh, M.T.H. (2019) Study on the effect of spray drying method on the quality of noni powder. *Tạp Chí Khoa Học và Công Nghệ - Đại Học Đà Nẵng*. 17 (1), 16–21.
- [121] Anh L.T.H., Nhon H.T.N., Kien N.M., and Kien T.T. (2016) Nghiên cứu thu nhận bột màu chlorophyll từ rong nước lợ *Cheatomorpha* sp. Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*. 10 30–38.
- [122] Tất T.Q., Liễu P.T.T., Trang N.T.P., and Khánh N.D. (2021) Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng hợp chất polyphenol, sắc tố carotenoids, chlorophyll và hoạt tính chống oxy hóa của cây rau càng cua (*Peperomia pellucida* L.) thu ở tỉnh Tiền Giang. *Tạp chí khoa học Đại học Mở thành phố Hồ Chí Minh - kỹ thuật và công nghệ*. 16 (1), 25–33.
- [123] Nguyễn N.M.P. and Nguyễn H.N. (2022) Khảo sát các điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly chlorophyll bằng ethanol từ cây lá dứa (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) và ổn định các hợp chất chống oxy hóa trong sản phẩm khô. *Tạp chí Khoa học - Đại học Cần Thơ*. 58 (6), 117–125.
- [124] Krakowska-Sieprawska, A., Kielbasa, A., Rafińska, K., Ligor, M., and Buszewski, B. (2022) Modern methods of pre-treatment of plant material for the extraction of bioactive compounds. *Molecules*. 27 (3), 730.
- [125] Bộ Khoa học và Công nghệ (2023) Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN ISO/TS 22002-5:2023: Chương trình tiên quyết về an toàn thực phẩm - Phần 5: Vận chuyển và bảo quản.
- [126] Kim, K., Park, J., Sohn, Y., Oh, C.-E., Park, J.-H., Yuk, J.-M., et al. (2022) Stability of plant leaf-derived extracellular vesicles according to preservative and storage temperature. *Pharmaceutics*. 14 (2), 457.

- [127] Yao, G., Zhang, H., Luo, G., Wang, Z., Zhao, H., Zhang, J., et al. (2021) Effect of *Senecio scandens* ethanol extract on gut microbiota composition in mice. *Archives of Microbiology*. 203 (4), 1477–1488.
- [128] Rajalakshmi, K. and Banu, N. (2015) Extraction and estimation of chlorophyll from medicinal plants. *International Journal of Science and Research*. 4 (11), 209–212.
- [129] Sen, S., De, B., Devanna, N., and Chakraborty, R. (2013) Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of *Meyna spinosa* Roxb., an Indian medicinal plant. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 11 (2), 149–157.
- [130] McCleary, B.V. (2023) Measurement of dietary fiber: Which AOAC official method of analysis to use. *Journal of AOAC International*. 106 (4), 917–930.
- [131] Tram, N.N., Hien, P.P., and Oanh, H.N. (2015) Change of polyphenol oxidase activity during oolong tea process. *Journal of Food and Nutrition Sciences*. 3 (1), 88–93.
- [132] Sobuj, M.K.A., Islam, M.A., Islam, M.S., Islam, M.M., Mahmud, Y., and Rafiquzzaman, S.M. (2021) Effect of solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of *Padina tetrastrum* and *Gracilaria tenuistipitata* seaweeds collected from Bangladesh. *Scientific Reports*. 11 (1), 19082.
- [133] Salleh, W.M.N.H.W. and Khamis, S. (2021) Composition of essential oil from *Actinodaphne sesquipedalis* and its lipoxygenase activity. *Chemistry of Natural Compounds*. 57 (3), 553–555.
- [134] Zielinski, A.A.F., Granato, D., Alberti, A., Nogueira, A., Demiate, I.M., and Haminiuk, C.W.I. (2015) Modelling the extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of mixtures of green, white and black teas (*Camellia sinensis* L. Kuntze). *Journal of Food Science and Technology*. 52 (11), 6966–6977.
- [135] Syeda, A.M. and Riazunnisa, K. (2020) Data on GC-MS analysis, *in-vitro* anti-oxidant and anti-microbial activity of the *Catharanthus roseus* and *Moringa oleifera* leaf extracts. *Data in Brief*. 29 105258.
- [136] Berkow, E.L., Lockhart, S.R., and Ostrosky-Zeichner, L. (2020) Antifungal susceptibility testing: current approaches. *Clinical Microbiology Reviews*. 33 (3), e00069-19.
- [137] Pradini, G.W., Fauziah, N., Asarina, S., Anggareni, N., Widyastuti, R., and Syamsunarno, M.R.A. (2024) Prebiotic effect of cogon grass root extract on stimulating lactic acid bacteria growth in mice intestine. *Journal of Medicine and Health*. 6 (1), 34–44.
- [138] Berendika, M., Domjanić Drozdek, S., Odeh, D., Oršolić, N., Dragičević, P., Sokolović, M., et al. (2022) Beneficial effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) and myrtle (*Myrtus communis* L.) extract on rat health. *Molecules*. 27 (2), 581.

- [139] Lodovico, S.D., Dotta, T.C., Cellini, L., Iezzi, G., D'Ercole, S., and Petrini, M. (2023) The antibacterial and antifungal capacity of eight commercially available types of mouthwash against oral microorganisms: an in vitro study. *Antibiotics*. 12 (4), 675.
- [140] Sun, Y., Zhang, M., Shi, D., Dai, X., and Li, X. (2024) Effects of designed herbal formula on growth performance, blood indices, organ traits, and cecum microbiology in broilers. *Veterinary Sciences*. 11 (3), 107.
- [141] Fan, S., Raychaudhuri, S., Page, R., Shahinozzaman, M., and Obanda, D.N. (2021) Metagenomic insights into the effects of *Urtica dioica* vegetable on the gut microbiota of C57BL/6J obese mice, particularly the composition of *Clostridia*. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 91 108594.
- [142] Liu, R., Hong, J., Xu, X., Feng, Q., Zhang, D., Gu, Y., et al. (2017) Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nature Medicine*. 23 (7), 859–868.
- [143] Abulfaraj, A.A., Shami, A.Y., Alotaibi, N.M., Alomran, M.M., Aloufi, A.S., Al-Andal, A., et al. (2024) Exploration of genes encoding KEGG pathway enzymes in rhizospheric microbiome of the wild plant *Abutilon fruticosum*. *AMB Express*. 14 (1), 27.
- [144] Yang, C.M. and Lee, Y.J. (2001) Seasonal changes of chlorophyll content in field-grown rice crops and their relationships with growth. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life Sciences*. 25 (4), 233–238.
- [145] Thi, N.D. and Hwang, E.-S. (2014) Bioactive compound contents and antioxidant activity in aronia (*Aronia melanocarpa*) leaves collected at different growth stages. *Preventive Nutrition and Food Science*. 19 (3), 204–212.
- [146] Santanoo, S., Lontom, W., Dongsansuk, A., Vongcharoen, K., and Theerakulpisut, P. (2023) Photosynthesis performance at different growth stages, growth, and yield of rice in saline fields. *Plants*. 12 (9), 1903.
- [147] Yu, X., Yang, T., Qi, Q., Du, Y., Shi, J., Liu, X., et al. (2021) Comparison of the contents of phenolic compounds including flavonoids and antioxidant activity of rice (*Oryza sativa*) and Chinese wild rice (*Zizania latifolia*). *Food Chemistry*. 344 128600.
- [148] Dong, C., Fu, Y., Liu, G., and Liu, H. (2014) Low light intensity effects on the growth, photosynthetic characteristics, antioxidant capacity, yield and quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) at different growth stages in BLSS. *Advances in Space Research*. 53 (11), 1557–1566.
- [149] Muhidin, Syam'un, E., Kaimuddin, Musa, Y., Sadimantara, G.R., Usman, et al. (2018b) Shading effect on generative characters of upland red rice of

- Southeast Sulawesi, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 157 (1), 012017.
- [150] Song, S., He, A., Zhao, T., Yin, Q., Mu, Y., Wang, Y., et al. (2022) Effects of shading at different growth stages with various shading intensities on the grain yield and anthocyanin content of colored rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research*. 283 108555.
- [151] Dou, H., Niu, G., Gu, M., and Masabni, J.G. (2017) Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. *Horticulturae*. 3 (2), 36.
- [152] Zhang, D., Duan, X., Wang, Y., Shang, B., Liu, H., Sun, H., et al. (2021) A comparative investigation on physicochemical properties, chemical composition, and in vitro antioxidant activities of rice bran oils from different japonica rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 15 (2), 2064–2077.
- [153] Dorp, K., Hölzl, G., Plohm, C., Eisenhut, M., Abraham, M., Weber, A.P.M., et al. (2015) Remobilization of phytol from chlorophyll degradation is essential for tocopherol synthesis and growth of *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 27 (10), 2846–2859.
- [154] Wang, G., Zeng, F., Song, P., Sun, B., Wang, Q., and Wang, J. (2022) Effects of reduced chlorophyll content on photosystem functions and photosynthetic electron transport rate in rice leaves. *Journal of Plant Physiology*. 272 153669.
- [155] Liu, C., Liu, Y., Lu, Y., Liao, Y., Nie, J., Yuan, X., et al. (2019) Use of a leaf chlorophyll content index to improve the prediction of above-ground biomass and productivity. *PeerJ*. 6 e6240.
- [156] Bhat, M.A., Lone, H.A., and Mehraj, S.S. (2019) Chapter 14 - Nutrient remobilization during senescence. in: M. Sarwat, N. Tuteja (Eds.), *Senescence Signalling and Control in Plants*, Academic Press, pp. 227–237.
- [157] Hu, X., Gu, T., Khan, I., Zada, A., and Jia, T. (2021) Research progress in the interconversion, turnover and degradation of chlorophyll. *Cells*. 10 (11), 3134.
- [158] Durrett, T.P. and Welti, R. (2021) The tail of chlorophyll: Fates for phytol. *Journal of Biological Chemistry*. 296 100802.
- [159] Rontani, J.F., Nassiry, M., and Mouzdahir, A. (2007) Free radical oxidation (autooxidation) of  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E): A potential source of 4,8,12,16-tetramethylheptadecan-4-olide in the environment. *Organic Geochemistry*. 38 (1), 37–47.
- [160] Xiao, R., Zou, Y., Guo, X., Li, H., and Lu, H. (2022) Fatty acid desaturases (FADs) modulate multiple lipid metabolism pathways to improve plant resistance. *Molecular Biology Reports*. 49 (10), 9997–10011.

- [161] Yu, L., Zhou, C., Fan, J., Shanklin, J., and Xu, C. (2021) Mechanisms and functions of membrane lipid remodeling in plants. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*. 107 (1), 37–53.
- [162] Wang, R., Ma, J., Huang, R., Wang, Y., Jiang, Y., Ling, Y., et al. (2024) The effects of shading on the photosynthetic performance of endangered plant *Horsfieldia hainanensis* seedlings. *Forests*. 15 (1), 3.
- [163] Fan, J., Yu, L., and Xu, C. (2017) A central role for triacylglycerol in membrane lipid breakdown, fatty acid  $\beta$ -oxidation, and plant survival under extended darkness. *Plant Physiology*. 174 (3), 1517–1530.
- [164] Xu, B., You, S., Zhou, L., Kang, H., Luo, D., Ma, H., et al. (2020) Simultaneous determination of free phytosterols and tocopherols in vegetable oils by an improved SPE–GC–FID method. *Food Analytical Methods*. 13 (2), 358–369.
- [165] Rogowska, A. and Szakiel, A. (2021) Enhancement of phytosterol and triterpenoid production in plant hairy root cultures-simultaneous stimulation or competition? *Plants*. 10 (10), 2028.
- [166] Manghwar, H., Hussain, A., Ali, Q., and Liu, F. (2022) Brassinosteroids (Brs) role in plant development and coping with different stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 23 (3), 1012.
- [167] Liu, J., Huang, Y., Liu, S., Cheng, L., Xu, D., Ling, Y., et al. (2024) Combining transcriptome and untargeted metabolome analysis to reveal the potential mechanism of 24-epibrassinolide alleviating low light stress in tomato. *Current Plant Biology*. 38 100327.
- [168] Chen, J., Wu, S., Mao, K., Li, J., Dong, F., Tang, J., et al. (2023) Adverse effects of shading on the tea yield and the restorative effects of exogenously applied brassinolide. *Industrial Crops and Products*. 197 116546.
- [169] Ma, L. and Li, G. (2019) Auxin-dependent cell elongation during the shade avoidance response. *Frontiers in Plant Science*. 10 914.
- [170] Iglesias, M.J., Sellaro, R., Zurbriggen, M.D., and Casal, J.J. (2018) Multiple links between shade avoidance and auxin networks. *Journal of Experimental Botany*. 69 (2), 213–228.
- [171] Wang, C., Zhang, B., Song, L., Li, P., Hao, Y., and Zhang, J. (2020) Assessment of different blanching strategies on quality characteristics and bioactive constituents of *Toona sinensis*. *LWT*. 130 109549.
- [172] Tang, M., Sun, H., Zhang, Z., Zhao, J., Cao, J., Thakur, K., et al. (2019) Evaluation of hot water and microwave blanching on qualities and sensory characteristics of water dropwort (*Oenanthe javanica*). *Journal of Food Processing and Preservation*. 43 (10), e14104.
- [173] Li, R., Shang, H., Wu, H., Wang, M., Duan, M., and Yang, J. (2018) Thermal inactivation kinetics and effects of drying methods on the phenolic profile and

- antioxidant activities of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Scientific Reports*. 8 (1), 9529.
- [174] Kalse, S.B. and Khobragade, C.B. (2021) Chapter 4: Blanching treatments in food processing. in: Food Processing, Dash Kshirod Kumar&Chakraborty Sourav, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratonp. 14.
- [175] Ji, D., Wang, Q., Lu, T., Ma, H., and Chen, X. (2022) The effects of ultrasonication on the phytochemicals, antioxidant, and polyphenol oxidase and peroxidase activities in coffee leaves. *Food Chemistry*. 373 (B), 131480.
- [176] Oliveira, P.P., Schmidt, V.C.R., de Santana, R.C., and Zotarelli, M.F. (2024) Production and characterization of mint (*Mentha spicata* L.) by spray drying. *Journal of Food Process Engineering*. 47 (1), e14508.
- [177] Plaskova, A. and Mlcek, J. (2023) New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Frontiers in Nutrition*. 10 1118761.
- [178] Abd El-Salam, E.A. and Morsy, N.F.S. (2019) Optimization of the extraction of polyphenols and antioxidant activity from *Malva parviflora* L. leaves using Box-Behnken design. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 49 (9), 876–883.
- [179] El Mannoubi, I. (2021) Effect of extraction solvent on phenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of skin and pulp of Tunisian red and yellow–orange *Opuntia ficus Indica* fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 15 (1), 643–651.
- [180] Gallo, L. and Bucalá, V. (2019) A review on influence of spray drying process parameters on the production of medicinal plant powders. *Current Drug Discovery Technologies*. 16 (4), 340–354.
- [181] Nguyen, Q.V., Nguyen, M.T., Bui, B.H., Doan, M.D., Nguyen, A.D., Le, T., et al. (2022) Impact of different drying temperatures on in vitro antioxidant and antidiabetic activities and phenolic compounds of wild guava leaves collected in the central highland of Vietnam. *Natural Product Communications*. 17 (4), 1934578X221095349.
- [182] Tran, T.A.T. and Nguyen, V.H.H. (2018) Effects of spray-drying temperatures and carriers on physical and antioxidant properties of lemongrass leaf extract powder. *Beverages*. 4 (4), 84.
- [183] Dong, T.A.D., Hoang, V.T., Do, V.H., and Nguyen, D.V. (2021) Optimization of spray-drying process to manufacture green tea powder and its characters. *Food Science & Nutrition*. 9 (12), 6566–6574.
- [184] Nouri, E., Abbasi, H., and Rahimi, E. (2018) Effects of processing on stability of water- and fat-soluble vitamins, pigments (C-phycoyanin, carotenoids, chlorophylls) and colour characteristics of *Spirulina platensis*. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 10 (4), 335–349.

- [185] Rahmati, E., Sharifian, F., and Fattahi, M. (2020) Process optimization of spray-dried Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract powder. *Food Science & Nutrition*. 8 (12), 6580–6591.
- [186] Papalia, T., Sidari, R., and Panuccio, M.R. (2019) Impact of different storage methods on bioactive compounds in *Arthrospira platensis* biomass. *Molecules*. 24 (15), 2810.
- [187] Nguyen, Q.V., Doan, M.D., Bui, T.B.H., Nguyen, M.T., Tran, D.M., Nguyen, A.D., et al. (2023) The effect of drying methods on chlorophyll, polyphenol, flavonoids, phenolic compounds contents, color and sensory properties, and in vitro antioxidant and anti-diabetic activities of dried wild guava leaves. *Drying Technology*. 41 (8), 1291–1302.
- [188] Dong, R., Yu, Q., Liao, W., Liu, S., He, Z., Hu, X., et al. (2021) Composition of bound polyphenols from carrot dietary fiber and its *in vivo* and *in vitro* antioxidant activity. *Food Chemistry*. 339 127879.
- [189] Navarro-Flores, M.J., Ventura-Canseco, L.M.C., Meza-Gordillo, R., Ayora-Talavera, T. del R., and Abud-Archila, M. (2020) Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *Journal of Food Science and Technology*. 57 (11), 4111–4122.
- [190] Duan, X., Yang, X., Ren, G., Pang, Y., Liu, L., and Liu, Y. (2016) Technical aspects in freeze-drying of foods. *Drying Technology*. 34 (11), 1271–1285.
- [191] Östbring, K., Sjöholm, I., Rayner, M., and Erlanson-Albertsson, C. (2020) Effects of storage conditions on degradation of chlorophyll and emulsifying capacity of thylakoid powders produced by different drying methods. *Foods*. 9 (5), 669.
- [192] Cheng, A.W., Xie, H.-X., Qi, Y., Liu, C., Guo, X., Sun, J.Y., et al. (2017) Effects of storage time and temperature on polyphenolic content and qualitative characteristics of freeze-dried and spray-dried bayberry powder. *LWT-Food Science and Technology*. 78 235–240.
- [193] Sathya, R., Rasane, P., Singh, J., Kaur, S., Bakshi, M., Gunjal, M., et al. (2024) Strategic advances in the management of browning in fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology*. 17 (2), 325–350.
- [194] Kim, J.M., Kang, J.Y., Park, S.K., Han, H.J., Lee, K.Y., Kim, A.N., et al. (2020) Effect of storage temperature on the antioxidant activity and catechins stability of Matcha (*Camellia sinensis*). *Food Science and Biotechnology*. 29 (9), 1261–1271.
- [195] Ganeshpurkar, A. and Saluja, A. (2020) The pharmacological potential of catechin. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 57 (5), 505–511.

- [196] Baranwal, A., Aggarwal, P., Rai, A., and Kumar, N. (2022) Pharmacological actions and underlying mechanisms of catechin: A review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 22 (5), 821–833.
- [197] Peng, Z., Edwards, H., Mustfa, W., El Safadi, M., Tehreem, S., Gaafar, A.-R.Z., et al. (2024) Ameliorative role of catechin to combat against lindane instigated liver toxicity via modulating PI3K/PIP3/Akt, Nrf-2/Keap-1, NF- $\kappa$ B pathway and histological profile. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 204 106063.
- [198] Shikha, D., Singh, A., Rangra, N.K., Monga, V., and Bhatia, R. (2024) Insights to therapeutic potentials, pharmaceutical formulations, chemistry and analytical methods of catechin. *Phytochemistry Reviews*. 23 (5), 1557–1598.
- [199] Mita, S.R., Husni, P., Putriana, N.A., Maharani, R., Hendrawan, R.P., and Dewi, D.A. (2024) A recent update on the potential use of catechins in cosmeceuticals. *Cosmetics*. 11 (1), 23.
- [200] Jabeen, N.M., Yadav, P., Naika, M., and Devanna, N. (2020) Nutritional and antioxidant potential of lyophilized wheat grass juice and shoot powders. *The Journal of Research Angra*. 48 (2), 7–22.
- [201] Ferreira, R.M., Queffelec, J., Flórez-Fernández, N., Saraiva, J.A., Torres, M.D., Cardoso, S.M., et al. (2023) Production of betalain-rich *Opuntia ficus Indica* peel flour microparticles using spray-dryer: A holist approach. *LWT-Food Science and Technology*. 186 115241.
- [202] Thaiudom, S., Oonsivilai, R., and Thaiwong, N. (2021) Production of colorant powder from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel: Bioactivity, heavy metal contamination, antimutagenicity, and antioxidation aspects. *Journal of Food Processing and Preservation*. 45 (1), e15044.
- [203] Panthi, M., Subba, R.K., Raut, B., Khanal, D.P., and Koirala, N. (2020) Bioactivity evaluations of leaf extract fractions from young barley grass and correlation with their phytochemical profiles. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 20 (1), 64.
- [204] Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Paredes, A., Loyola, L.A., Gallardo, O., et al. (2003) Secondary metabolites from four medicinal plants from Northern Chile: Antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 48 (2), 13–18.
- [205] Sanam, M.U.E., Detha, A.I.R., and Rohi, N.K. (2022) Detection of antibacterial activity of lactic acid bacteria, isolated from Sumba mare's milk, against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 9 (1), 53–58.
- [206] Holetz, F.B., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A.G., Nakamura, C.V., and Dias Filho, B.P. (2002) Screening of some plants used in the Brazilian

- folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*. 97 (7), 1027–1031.
- [207] Panda, S.K., Mohanta, Y.K., Padhi, L., and Luyten, W. (2019) Antimicrobial activity of select edible plants from Odisha, India against food-borne pathogens. *LWT-Food Science and Technology*. 113 108246.
- [208] Alkufeidy, R.M., Ameer Altuwijri, L., Aldosari, N.S., Alsakabi, N., and Dawoud, T.M. (2024) Antimicrobial and synergistic properties of green tea catechins against microbial pathogens. *Journal of King Saud University - Science*. 36 (8), 103277.
- [209] Huang, J., Yu, H., Hong, G., Cheng, H., and Zheng, M. (2020) Antifungal effect of tea extracts on *Candida albicans*. *Dental Materials Journal*. 39 (4), 664–669.
- [210] Chauhan, A. (2014) Determination of antioxidant capacity, total phenolics and antimicrobial properties of spray-dried guava extract for value-added processing. *Journal of Food Processing & Technology*. 5 (9), 368.
- [211] Vamanu, E., Vamanu, A., Nita, S., and Colceriu, S. (2011) Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extracts of *Cynara scolymus* (*Cynarae folium*, *Asteraceae* Family). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 10 (6), 777–783.
- [212] Silva, M.C., Souza, V.B.D., Thomazini, M., Da Silva, E.R., Smaniotto, T., Carvalho, R.A.D., et al. (2014) Use of the jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. *LWT - Food Science and Technology*. 55 (1), 203–209.
- [213] Fujita, A., Sarkar, D., Wu, S., Kennelly, E., Shetty, K., and Genovese, M.I. (2015) Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International*. 77 194–203.
- [214] Iyojo, I.J., Ibrahim, R.P., Tagang, A., Allam, L., and Olusegun, A.J. (2022) Effects of different extracts of *Azanza garckeana* fruit pulp on haematological and biochemical parameters of New Zealand White (NZW) rabbit bucks. *Comparative Clinical Pathology*. 31 (3), 453–463.
- [215] Niamsa, W., Ben Said, S., Rame, C., Aroua, M., Mahouachi, M., Froment, P., et al. (2024) Evaluation of acute toxicity of *Scabiosa arthropurpurea* var. *Maritima* aqueous extracts in Swiss mice. *Toxicon*. 239 107614.
- [216] Silva-Santana, G., Bax, J.C., Fernandes, D.C.S., Bacellar, D.T.L., Hooper, C., Dias, A.A.S.O., et al. (2020) Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 *Mus musculus*. *Animal Models and Experimental Medicine*. 3 (4), 304–315.

- [217] Sutoyo, D.A., Atmaka, D.R., and G. B. Sidabutar, L.M. (2020) Dietary factors affecting *Firmicutes* and *Bacteroidetes* ratio in solving obesity problem: A literature review. *Media Gizi Indonesia*. 15 (2), 94–109.
- [218] Jaja-Chimedza, A., Zhang, L., Wolff, K., Graf, B.L., Kuhn, P., Moskal, K., et al. (2018) A dietary isothiocyanate-enriched moringa (*Moringa oleifera*) seed extract improves glucose tolerance in a high-fat-diet mouse model and modulates the gut microbiome. *Journal of Functional Foods*. 47 376–385.
- [219] Li, S., Zhang, C., Gu, Y., Chen, L., Ou, S., Wang, Y., et al. (2015) Lean rats gained more body weight than obese ones from a high-fibre diet. *British Journal of Nutrition*. 114 (8), 1188–1194.
- [220] Molino, S., Lerma-Aguilera, A., Jiménez-Hernández, N., Rufián Henares, J.Á., and Francino, M.P. (2022) Evaluation of the effects of a short supplementation with tannins on the gut microbiota of healthy subjects. *Frontiers in Microbiology*. 13 848611.
- [221] Fålk, F. and Bäckhed, F. (2012) *Lactobacillus reuteri* prevents diet-induced obesity, but not atherosclerosis, in a strain dependent fashion in Apoe<sup>-/-</sup> mice. *PloS One*. 7 (10), e46837.
- [222] Zhang, S., Lv, H., Cai, X., Tang, S., Zhong, R., Chen, L., et al. (2024) Effects of the compound extracts of *Caprifoliaceae* and *Scutellaria baicalensis* Georgi on the intestinal microbiota and antioxidant function. *Frontiers in Microbiology*. 14 (502), 1289490.
- [223] Liu, J., Hao, W., He, Z., Kwek, E., Zhao, Y., Zhu, H., et al. (2019) Beneficial effects of tea water extracts on the body weight and gut microbiota in C57BL/6J mice fed with a high-fat diet. *Food & Function*. 10 (5), 2847–2860.
- [224] Yin, D., Du, E., Yuan, J., Gao, J., Wang, Y., Aggrey, S.E., et al. (2017) Supplemental thymol and carvacrol increases ileum *Lactobacillus* population and reduces effect of necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* in chickens. *Scientific Reports*. 7 (1), 7334.
- [225] Ottosson, F., Brunkwall, L., Ericson, U., Nilsson, P.M., Almgren, P., Fernandez, C., et al. (2018) Connection between BMI-related plasma metabolite profile and gut microbiota. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 103 (4), 1491–1501.
- [226] Kobayashi, S., Morino, K., Okamoto, T., Tanaka, M., Ida, S., Ohashi, N., et al. (2024) Acetate derived from the intestinal tract has a critical role in maintaining skeletal muscle mass and strength in mice. *Physiological Reports*. 12 (11), e16047.
- [227] Filannino, P., Di Cagno, R., and Gobbetti, M. (2018) Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: Get out of the labyrinth. *Current Opinion in Biotechnology*. 49 64–72.

- [228] Sharma, N., Tiwari, V., Vats, S., Kumari, A., Chunduri, V., Kaur, S., et al. (2020) Evaluation of anthocyanin content, antioxidant potential and antimicrobial activity of black, purple and blue colored wheat flour and wheat-grass juice against common human pathogens. *Molecules*. 25 (24), 5785.
- [229] Othman, M., Ariff, A.B., Rios-Solis, L., and Halim, M. (2017) Extractive fermentation of lactic acid in lactic acid bacteria cultivation: A review. *Frontiers in Microbiology*. 8 2285.
- [230] Zouiouich, S., Loftfield, E., Huybrechts, I., Viallon, V., Louca, P., Vogtmann, E., et al. (2021) Markers of metabolic health and gut microbiome diversity: Findings from two population-based cohort studies. *Diabetologia*. 64 (8), 1749–1759.
- [231] Cao, S.-Y., Zhao, C.-N., Xu, X.-Y., Tang, G.-Y., Corke, H., Gan, R.-Y., et al. (2019) Dietary plants, gut microbiota, and obesity: Effects and mechanisms. *Trends in Food Science & Technology*. 92 194–204.
- [232] Sarita, B., Samadhan, D., Hassan, M.Z., and Kovaleva, E.G. (2025) A comprehensive review of probiotics and human health-current prospective and applications. *Frontiers in Microbiology*. 15 1487641.
- [233] Lahiri, S., Kim, H., Garcia-Perez, I., Reza, M.M., Martin, K.A., Kundu, P., et al. (2019) The gut microbiota influences skeletal muscle mass and function in mice. *Science Translational Medicine*. 11 (502), ean5662.
- [234] Stanley, D., Hughes, R.J., Geier, M.S., and Moore, R.J. (2016) Bacteria within the gastrointestinal tract microbiota correlated with improved growth and feed conversion: Challenges presented for the identification of performance enhancing probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 7 187.
- [235] Zhu, N., Wang, J., Yu, L., Zhang, Q., Chen, K., and Liu, B. (2019) Modulation of growth performance and intestinal microbiota in chickens fed plant extracts or virginiamycin. *Frontiers in Microbiology*. 10 1333.
- [236] Li, Y., Fu, X., Ma, X., Geng, S., Jiang, X., Huang, Q., et al. (2018a) Intestinal microbiome-metabolome responses to essential oils in piglets. *Frontiers in Microbiology*. 9 1988.
- [237] Knezevic, S., Ghafoor, A., Mehri, S., Barazi, A., Dziura, M., Trant, J.F., et al. (2021) Catechin and other catechol-containing secondary metabolites: Bacterial biotransformation and regulation of carbohydrate metabolism. *PharmaNutrition*. 17 100273.
- [238] Song, G., Wu, F., Peng, Y., Jiang, X., and Wang, Q. (2022) High-level production of catechol from glucose by engineered *Escherichia coli*. *Fermentation*. 8 (7), 344.
- [239] Akhtar, M., Chen, Y., Ma, Z., Zhang, X., Shi, D., Khan, J.A., et al. (2022) Gut microbiota-derived short chain fatty acids are potential mediators in gut inflammation. *Animal Nutrition*. 8 350–360.

- [240] Facchin, S., Bertin, L., Bonazzi, E., Lorenzon, G., De Barba, C., Barberio, B., et al. (2024) Short-chain fatty acids and human health: From metabolic pathways to current therapeutic implications. *Life*. 14 (5), 559.
- [241] Zhong, Y.-B., Kang, Z.-P., Wang, M.-X., Long, J., Wang, H.-Y., Huang, J.-Q., et al. (2021) Curcumin ameliorated dextran sulfate sodium-induced colitis via regulating the homeostasis of DCs and Treg and improving the composition of the gut microbiota. *Journal of Functional Foods*. 86 104716.
- [242] Caballero, S., Kim, S., Carter, R.A., Leiner, I.M., Sušac, B., Miller, L., et al. (2017) Cooperating commensals restore colonization resistance to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Cell Host & Microbe*. 21 (5), 592–602.
- [243] Vacca, M., Celano, G., Calabrese, F.M., Portincasa, P., Gobetti, M., and De Angelis, M. (2020) The controversial role of human gut *Lachnospiraceae*. *Microorganisms*. 8 (4), 573.
- [244] Hong, Y., Sheng, L., Zhong, J., Tao, X., Zhu, W., Ma, J., et al. (2021) *Desulfovibrio vulgaris*, a potent acetic acid-producing bacterium, attenuates nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Gut Microbes*. 13 (1), 1–20.
- [245] Sheridan, P.O., Martin, J.C., Lawley, T.D., Browne, H.P., Harris, H.M.B., Bernalier-Donadille, A., et al. (2016) Polysaccharide utilization loci and nutritional specialization in a dominant group of butyrate-producing human colonic *Firmicutes*. *Microbial Genomics*. 2 (2), e000043.
- [246] Raimondi, S., Musmeci, E., Candeliere, F., Amaretti, A., and Rossi, M. (2021) Identification of mucin degraders of the human gut microbiota. *Scientific Reports*. 11 (1), 11094.
- [247] Kakade, A., Salama, E.S., Usman, M., Arif, M., Feng, P., and Li, X. (2022) Dietary application of *Lactococcus lactis* alleviates toxicity and regulates gut microbiota in *Cyprinus carpio* on exposure to heavy metals mixture. *Fish & Shellfish Immunology*. 120 190–201.
- [248] Zálán, Z., Hudáček, J., Tóth-Markus, M., Husová, E., Solichová, K., Hegyi, F., et al. (2011) Sensorically and antimicrobially active metabolite production of *Lactobacillus* strains on *Jerusalem artichoke* juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91 (4), 672–679.
- [249] Singh, R.P., Shadan, A., and Ma, Y. (2022) Biotechnological applications of probiotics: A multifarious weapon to disease and metabolic abnormality. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 14 (6), 1184–1210.
- [250] Huang, F., Teng, K., Liu, Y., Cao, Y., Wang, T., Ma, C., et al. (2021) Bacteriocins: Potential for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021 (1), 5518825.
- [251] Lippert, K., Kedenko, L., Antonielli, L., Kedenko, I., Gemeier, C., Leitner, M., et al. (2017) Gut microbiota dysbiosis associated with glucose metabolism

disorders and the metabolic syndrome in older adults. *Beneficial Microbes*. 8 (4), 545–556.

- [252] Chávez-Carbajal, A., Nirmalkar, K., Pérez-Lizaur, A., Hernández-Quiroz, F., Ramírez-del-Alto, S., García-Mena, J., et al. (2019) Gut microbiota and predicted metabolic pathways in a sample of Mexican women affected by obesity and obesity plus metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*. 20 (2), 438.

## PHỤ LỤC 1. Kết quả phân tích thống kê

### 1. Kết quả phân tích thống kê nghiên cứu ảnh hưởng của giống lúa, thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hàm lượng các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa.

1.1. Kết quả phân tích thống kê nghiên cứu ảnh hưởng giống lúa, thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hàm lượng các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa

Bảng P1.1.1. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hàm lượng tổng chlorophyll trong lá lúa

#### Analysis of Variance for CHLO - Type III Sums of Squares

| Source            | Sum of Squares | Df  | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|-----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS      |                |     |             |         |         |
| A:DKCS            | 3.75385E6      | 2   | 1.87692E6   | 2375.15 | 0.0000  |
| B:TGST            | 1.47764E6      | 5   | 295529.     | 373.98  | 0.0000  |
| C:GIONG LUA       | 308513.        | 5   | 61702.5     | 78.08   | 0.0000  |
| INTERACTIONS      |                |     |             |         |         |
| AB                | 273306.        | 10  | 27330.6     | 34.59   | 0.0000  |
| AC                | 26853.1        | 10  | 2685.31     | 3.40    | 0.0004  |
| BC                | 379476.        | 25  | 15179.1     | 19.21   | 0.0000  |
| ABC               | 243094.        | 50  | 4861.88     | 6.15    | 0.0000  |
| RESIDUAL          | 170691.        | 216 | 790.235     |         |         |
| TOTAL (CORRECTED) | 6.63342E6      | 323 |             |         |         |

#### Multiple Range Tests for CHLO by GIONG LUA

Method: 95.0 percent Duncan

| GIONG LUA | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|-----------|-------|---------|----------|--------------------|
| TNG       | 54    | 1177.56 | 3.82544  | X                  |
| NTH       | 54    | 1205.44 | 3.82544  | X                  |
| HRO       | 54    | 1217.79 | 3.82544  | X                  |
| IR504     | 54    | 1247.6  | 3.82544  | X                  |
| NTI       | 54    | 1249.61 | 3.82544  | X                  |
| HLA       | 54    | 1269.29 | 3.82544  | X                  |

#### Multiple Range Tests for CHLO by TGST

Method: 95.0 percent Duncan

| TGST | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|------|-------|---------|----------|--------------------|
| 1    | 54    | 1108.58 | 3.82544  | X                  |
| 2    | 54    | 1178.52 | 3.82544  | X                  |
| 3    | 54    | 1229.4  | 3.82544  | X                  |
| 6    | 54    | 1253.25 | 3.82544  | X                  |
| 5    | 54    | 1298.76 | 3.82544  | X                  |
| 4    | 54    | 1298.77 | 3.82544  | X                  |

#### Multiple Range Tests for CHLO by DKCS

Method: 95.0 percent Duncan

| DKCS | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|------|-------|---------|----------|--------------------|
| 2    | 108   | 1075.66 | 2.70499  | X                  |
| 0    | 108   | 1303.08 | 2.70499  | X                  |
| 1    | 108   | 1304.9  | 2.70499  | X                  |

Bảng P1.1.2. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến tỷ lệ chlorophyll a/b trong lá lúa

#### Analysis of Variance for TY LE A:B - Type III Sums of Squares

| Source       | Sum of Squares | Df  | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|--------------|----------------|-----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS |                |     |             |         |         |
| A:DKCS       | 0.0227837      | 2   | 0.0113918   | 9.15    | 0.0002  |
| B:TGST       | 0.272812       | 5   | 0.0545623   | 43.83   | 0.0000  |
| C:GIONG LUA  | 0.184586       | 5   | 0.0369171   | 29.66   | 0.0000  |
| INTERACTIONS |                |     |             |         |         |
| AB           | 0.224529       | 10  | 0.0224529   | 18.04   | 0.0000  |
| AC           | 0.153161       | 10  | 0.0153161   | 12.30   | 0.0000  |
| BC           | 0.401374       | 25  | 0.0160549   | 12.90   | 0.0000  |
| ABC          | 0.595654       | 50  | 0.0119131   | 9.57    | 0.0000  |
| RESIDUAL     | 0.268895       | 216 | 0.00124488  |         |         |

|                   |         |     |  |  |  |
|-------------------|---------|-----|--|--|--|
| TOTAL (CORRECTED) | 2.12379 | 323 |  |  |  |
|-------------------|---------|-----|--|--|--|

**Multiple Range Tests for TY LE A:B by GIONG LUA**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>GIONG LUA</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|------------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| NTI              | 54           | 0.546163       | 0.0048014       | X                         |
| HLA              | 54           | 0.562044       | 0.0048014       | X                         |
| IR504            | 54           | 0.575376       | 0.0048014       | XX                        |
| NTH              | 54           | 0.58499        | 0.0048014       | X                         |
| TNG              | 54           | 0.605921       | 0.0048014       | X                         |
| HRO              | 54           | 0.615339       | 0.0048014       | X                         |

**Multiple Range Tests for TY LE A:B by TGST**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>TGST</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 1           | 54           | 0.533335       | 0.0048014       | X                         |
| 4           | 54           | 0.563687       | 0.0048014       | X                         |
| 5           | 54           | 0.569771       | 0.0048014       | X                         |
| 6           | 54           | 0.595808       | 0.0048014       | X                         |
| 2           | 54           | 0.611406       | 0.0048014       | X                         |
| 3           | 54           | 0.615826       | 0.0048014       | X                         |

**Multiple Range Tests for TY LE A:B by DKCS**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>DKCS</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 1           | 108          | 0.573883       | 0.0033951       | X                         |
| 0           | 108          | 0.577747       | 0.0033951       | X                         |
| 2           | 108          | 0.593286       | 0.0033951       | X                         |

Bảng P1.1.3. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hàm lượng tổng polyphenol trong lá lúa

**Analysis of Variance for POLYPHENOL - Type III Sums of Squares**

| <i>Source</i>     | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| MAIN EFFECTS      |                       |           |                    |                |                |
| A:DKCS            | 762.023               | 2         | 381.012            | 9755.12        | 0.0000         |
| B:TGST            | 40.3755               | 5         | 8.07511            | 206.75         | 0.0000         |
| C:GIONG LUA       | 15.7073               | 5         | 3.14145            | 80.43          | 0.0000         |
| INTERACTIONS      |                       |           |                    |                |                |
| AB                | 34.5995               | 10        | 3.45995            | 88.59          | 0.0000         |
| AC                | 9.41664               | 10        | 0.941664           | 24.11          | 0.0000         |
| BC                | 23.6354               | 25        | 0.945417           | 24.21          | 0.0000         |
| ABC               | 25.6289               | 50        | 0.512579           | 13.12          | 0.0000         |
| RESIDUAL          | 8.43644               | 216       | 0.0390576          |                |                |
| TOTAL (CORRECTED) | 919.823               | 323       |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by DKCS**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>DKCS</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 2           | 108          | 2.03639        | 0.019017        | X                         |
| 1           | 108          | 3.46363        | 0.019017        | X                         |
| 0           | 108          | 5.75931        | 0.019017        | X                         |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by TGST**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>TGST</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 1           | 54           | 3.06643        | 0.026894        | X                         |
| 2           | 54           | 3.63158        | 0.026894        | X                         |
| 4           | 54           | 3.79227        | 0.026894        | X                         |
| 6           | 54           | 3.85302        | 0.026894        | X                         |
| 3           | 54           | 3.97368        | 0.026894        | X                         |
| 5           | 54           | 4.2017         | 0.026894        | X                         |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by GIONG LUA**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>GIONG LUA</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|------------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| HRO              | 54           | 3.40745        | 0.026894        | X                         |
| HLA              | 54           | 3.53873        | 0.026894        | X                         |
| TNG              | 54           | 3.76946        | 0.026894        | X                         |
| NTI              | 54           | 3.86098        | 0.026894        | X                         |

|       |    |         |          |   |
|-------|----|---------|----------|---|
| NTH   | 54 | 3.87468 | 0.026894 | X |
| IR504 | 54 | 4.06736 | 0.026894 | X |

Bảng P1.1.4. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hàm lượng xơ tan trong lá lúa

**Analysis of Variance for XO TAN - Type III Sums of Squares**

| Source            | Sum of Squares | Df  | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|-----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS      |                |     |             |         |         |
| A:DKCS            | 176431.        | 2   | 88215.6     | 110.59  | 0.0000  |
| B:TGST            | 8.99689E6      | 5   | 1.79938E6   | 2255.79 | 0.0000  |
| C:GIONG LUA       | 263676.        | 5   | 52735.2     | 66.11   | 0.0000  |
| INTERACTIONS      |                |     |             |         |         |
| AB                | 48519.3        | 10  | 4851.93     | 6.08    | 0.0000  |
| AC                | 45965.3        | 10  | 4596.53     | 5.76    | 0.0000  |
| BC                | 202771.        | 25  | 8110.84     | 10.17   | 0.0000  |
| ABC               | 81245.5        | 50  | 1624.91     | 2.04    | 0.0003  |
| RESIDUAL          | 172297.        | 216 | 797.671     |         |         |
| TOTAL (CORRECTED) | 9.9878E6       | 323 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for XO TAN by DKCS**

Method: 95.0 percent Duncan

| DKCS | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|------|-------|---------|----------|--------------------|
| 0    | 108   | 416.926 | 2.71769  | X                  |
| 1    | 108   | 440.362 | 2.71769  | X                  |
| 2    | 108   | 473.794 | 2.71769  | X                  |

**Multiple Range Tests for XO TAN by TGST**

Method: 95.0 percent Duncan

| TGST | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|------|-------|---------|----------|--------------------|
| 1    | 54    | 196.819 | 3.84339  | X                  |
| 2    | 54    | 261.86  | 3.84339  | X                  |
| 3    | 54    | 412.145 | 3.84339  | X                  |
| 4    | 54    | 576.67  | 3.84339  | X                  |
| 5    | 54    | 593.843 | 3.84339  | X                  |
| 6    | 54    | 620.825 | 3.84339  | X                  |

**Multiple Range Tests for XO TAN by GIONG LUA**

Method: 95.0 percent Duncan

| GIONG LUA | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|-----------|-------|---------|----------|--------------------|
| TNG       | 54    | 402.479 | 3.84339  | X                  |
| HLA       | 54    | 427.465 | 3.84339  | X                  |
| NTI       | 54    | 430.828 | 3.84339  | XX                 |
| IR504     | 54    | 441.363 | 3.84339  | X                  |
| NTH       | 54    | 472.544 | 3.84339  | X                  |
| HRO       | 54    | 487.483 | 3.84339  | X                  |

Bảng P1.1.5. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hoạt tính DPPH trong lá lúa

**Analysis of Variance for DPPH - Type III Sums of Squares**

| Source            | Sum of Squares | Df  | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|-----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS      |                |     |             |         |         |
| A:DKCS            | 190.55         | 2   | 95.2748     | 939.65  | 0.0000  |
| B:TGST            | 123.827        | 5   | 24.7655     | 244.25  | 0.0000  |
| C:GIONG LUA       | 17.0661        | 5   | 3.41322     | 33.66   | 0.0000  |
| INTERACTIONS      |                |     |             |         |         |
| AB                | 2.24875        | 10  | 0.224875    | 2.22    | 0.0179  |
| AC                | 18.9969        | 10  | 1.89969     | 18.74   | 0.0000  |
| BC                | 14.3082        | 25  | 0.57233     | 5.64    | 0.0000  |
| ABC               | 16.7267        | 50  | 0.334535    | 3.30    | 0.0000  |
| RESIDUAL          | 21.9012        | 216 | 0.101394    |         |         |
| TOTAL (CORRECTED) | 405.625        | 323 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for DPPH by GIONG LUA**

Method: 95.0 percent Duncan

| GIONG LUA | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|-----------|-------|---------|----------|--------------------|
|-----------|-------|---------|----------|--------------------|

|       |    |         |           |    |
|-------|----|---------|-----------|----|
| HLA   | 54 | 7.92182 | 0.0433321 | X  |
| NTI   | 54 | 8.06996 | 0.0433321 | X  |
| TNG   | 54 | 8.1857  | 0.0433321 | X  |
| NTH   | 54 | 8.3934  | 0.0433321 | X  |
| HRO   | 54 | 8.47717 | 0.0433321 | XX |
| IR504 | 54 | 8.56924 | 0.0433321 | X  |

#### Multiple Range Tests for DPPH by TGST

Method: 95.0 percent Duncan

| TGST | Count | LS Mean | LS Sigma  | Homogeneous Groups |
|------|-------|---------|-----------|--------------------|
| 1    | 54    | 7.23598 | 0.0433321 | X                  |
| 2    | 54    | 7.75571 | 0.0433321 | X                  |
| 3    | 54    | 8.21379 | 0.0433321 | X                  |
| 6    | 54    | 8.57448 | 0.0433321 | X                  |
| 4    | 54    | 8.81377 | 0.0433321 | X                  |
| 5    | 54    | 9.02356 | 0.0433321 | X                  |

#### Multiple Range Tests for DPPH by DKCS

Method: 95.0 percent Duncan

| DKCS | Count | LS Mean | LS Sigma  | Homogeneous Groups |
|------|-------|---------|-----------|--------------------|
| 2    | 108   | 7.33931 | 0.0306404 | X                  |
| 1    | 108   | 8.2518  | 0.0306404 | X                  |
| 0    | 108   | 9.21754 | 0.0306404 | X                  |

Bảng P1.1.6. Phân tích cụm (cluster analysis) và mối tương quan Spearman (Spearman rank correlation) ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng

#### Spearman Rank Correlations

|            | CHLO             | DPPH             | POLYPHENOL       | TY LE A:B        | XO TAN          |
|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| CHLO       |                  | 0.7196<br>(324)  | 0.6346<br>(324)  | -0.1697<br>(324) | 0.2998<br>(324) |
|            |                  | 0.0000           | 0.0000           | 0.0023           | 0.0000          |
| DPPH       | 0.7196<br>(324)  |                  | 0.7524<br>(324)  | -0.0340<br>(324) | 0.4155<br>(324) |
|            | 0.0000           |                  | 0.0000           | 0.5409           | 0.0000          |
| POLYPHENOL | 0.6346<br>(324)  | 0.7524<br>(324)  |                  | -0.0842<br>(324) | 0.0049<br>(324) |
|            | 0.0000           | 0.0000           |                  | 0.1301           | 0.9302          |
| TY LE A:B  | -0.1697<br>(324) | -0.0340<br>(324) | -0.0842<br>(324) |                  | 0.0828<br>(324) |
|            | 0.0023           | 0.5409           | 0.1301           |                  | 0.1368          |
| XO TAN     | 0.2998<br>(324)  | 0.4155<br>(324)  | 0.0049<br>(324)  | 0.0828<br>(324)  |                 |
|            | 0.0000           | 0.0000           | 0.9302           | 0.1368           |                 |

#### Icicle Plot

Clustering Method: Group Average; Distance Metric: Squared Euclidean

Number of Clusters

Variable Column 12345

|            |   |      |
|------------|---|------|
| CHLO       | 1 | XXX  |
|            |   | XXX  |
| DPPH       | 2 | XXXX |
|            |   | XXXX |
| POLYPHENOL | 3 | XXXX |
|            |   | XX   |
| XO TAN     | 5 | XX   |
|            |   | X    |
| TY LE A:B  | 4 | X    |

#### Agglomeration Schedule

|       | Combined  | Combined  |          | Previous Stage | Previous Stage | Next  |
|-------|-----------|-----------|----------|----------------|----------------|-------|
| Stage | Cluster 1 | Cluster 2 | Distance | Cluster 1      | Cluster 2      | Stage |
| 1     | 2         | 3         | 162.325  | 0              | 0              | 2     |
| 2     | 1         | 2         | 218.98   | 0              | 1              | 3     |
| 3     | 1         | 5         | 468.882  | 2              | 0              | 4     |
| 4     | 1         | 4         | 657.86   | 3              | 0              | 0     |

1.2. Kết quả phân tích thống kê nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian sinh trưởng đến sự tổng hợp các hợp chất trong trong lá lúa (sử dụng kết quả từ GC-MS)

Bảng P1.1.7. Bảng số liệu phân nhóm hợp chất từ kết quả chạy GC-MS của sáu giống lúa ở tuần 1

| Số tt | Phân loại hoá học/Bản chất | IR504  | HRO    | TNG    | HLA    | NTH    | NTI    |
|-------|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1     | Cyclic hydrocarbon         | -      | 3.179  | -      | -      | -      | -      |
| 2     | Diterpenoid                | 32.907 | 29.056 | 13.793 | 48.787 | 26.169 | 29.776 |
| 3     | Fatty acid amide           | 1.448  | -      | -      | 1.06   | -      | -      |
| 4     | Fatty acid ester           | 6.008  | -      | 22.598 | 2.925  | 19.054 | -      |
| 5     | Fatty nitrile              | -      | -      | -      | -      | -      | 0.761  |
| 6     | Heterocyclic compound      | -      | -      | -      | -      | -      | 1.093  |
| 7     | Meroterpenoid              | 1.649  | -      | 0.897  | 1.498  | 4.237  | 2.767  |
| 8     | Monoterpenoid              | 2.652  | 2.634  | 1.91   | 1.906  | 1.178  | 0.881  |
| 9     | Phenol                     | -      | 2.407  | 7.251  | 0.679  | -      | 0.945  |
| 10    | Phthalate ester            | 55.336 | 51.100 | 40.724 | 32.282 | 48.915 | 46.244 |
| 11    | Steroid                    | -      | 6.354  | 12.828 | 10.863 | -      | 17.533 |
| 12    | Aliphatic hydrocarbon      | -      | 2.205  | -      | -      | 0.447  | -      |
| 13    | Organosulfate              | -      | 3.065  | -      | -      | -      | -      |

Bảng P1.1.8. Bảng số liệu phân nhóm hợp chất từ kết quả chạy GC-MS của sáu giống lúa ở tuần 3

| Số tt | Phân loại hoá học/Bản chất | IR504  | HRO    | TNG    | HLA    | NTH    | NTI    |
|-------|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1     | Cyclic hydrocarbon         | 0.728  | -      | -      | -      | -      | -      |
| 2     | Diterpenoid                | 6.629  | 2.246  | 8.971  | 21.533 | 22.473 | 25.680 |
| 3     | Fatty acid amide           | 1.113  | 0.394  | 3.931  | 1.66   | 1.818  | 1.722  |
| 4     | Fatty acid ester           | 15.569 | 0.162  | 2.965  | -      | 0.550  | -      |
| 5     | Meroterpenoid              | -      | 0.812  | 8.84   | 12.176 | 6.966  | 5.820  |
| 6     | Monoterpenoid              | 0.693  | -      | 31.741 | 0.585  | 0.488  | -      |
| 7     | Phenol                     | -      | 0.205  | -      | -      | -      | -      |
| 8     | Phthalate ester            | 51.507 | 92.080 | -      | -      | 47.731 | 53.618 |
| 9     | Sesquiterpenoid            | 3.072  | -      | -      | -      | -      | -      |
| 10    | Steroid                    | 20.689 | 3.572  | 20.636 | 19.054 | 19.972 | 12.554 |
| 11    | Triterpenoid               | -      | -      | -      | -      | -      | 0.606  |
| 12    | Aliphatic hydrocarbon      | -      | 0.348  | 22.583 | 44.992 | -      | -      |
| 13    | Organosulfate              | -      | 0.181  | 0.335  | -      | -      | -      |

Bảng P1.1.9. Bảng số liệu phân nhóm hợp chất từ kết quả chạy GC-MS của sáu giống lúa ở tuần 5

| Số tt | Phân loại hoá học/Bản chất | IR504  | HRO    | TNG    | HLA    | NTH    | NTI    |
|-------|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1     | Cyclic hydrocarbon         | 1.809  | 3.400  | 2.967  | 5.641  | 2.895  | 5.168  |
| 2     | Diterpenoid                | 24.925 | 44.517 | 34.435 | 44.073 | 26.851 | 38.765 |
| 3     | Fatty acid                 | 2.375  | -      | -      | -      | -      | -      |
| 4     | Fatty acid amide           | 0.631  | -      | 0.541  | 1.147  | -      | 0.877  |
| 5     | Fatty acid ester           | 7.234  | 2.194  | 3.426  | 1.525  | 6.772  | 2.927  |
| 6     | Fatty alcohol              | 0.922  | -      | -      | -      | -      | -      |
| 7     | Fatty aldehyde             | 1.967  | -      | -      | 0.397  | -      | -      |
| 8     | Fatty nitrile              | 1.143  | 2.164  | 1.509  | 2.523  | 1.515  | 1.644  |
| 9     | Heterocyclic compound      | 1.498  | -      | 0.923  | 0.494  | -      | 0.932  |
| 10    | Meroterpenoid              | 2.489  | -      | 1.528  | 2.444  | 1.394  | 2.530  |
| 11    | Monoterpenoid              | -      | -      | 0.595  | 0.411  | -      | -      |
| 12    | Phenol                     | 0.569  | 0.854  | 0.785  | 0.622  | 0.538  | -      |
| 13    | Phthalate ester            | 43.635 | 39.397 | 46.896 | 31.815 | 50.216 | 38.302 |
| 14    | Steroid                    | 5.491  | 4.100  | 4.62   | 3.332  | 3.285  | 5.321  |
| 15    | Triterpenoid               | 5.309  | -      | 0.665  | 0.38   | -      | -      |
| 16    | Aliphatic Amine            | -      | 0.878  | -      | 0.669  | -      | -      |

|    |                       |   |       |       |       |       |       |
|----|-----------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| 17 | Benzaldehyde          | - | 2.495 | -     | 1.745 | 0.714 | 2.031 |
| 18 | Alkyl alcohol         | - | -     | 0.519 | -     | -     | -     |
| 19 | Carbonitrile          | - | -     | 0.593 | -     | -     | -     |
| 20 | Aliphatic hydrocarbon | - | -     | -     | 1.514 | 0.558 | -     |
| 21 | Carboxylic acid ester | - | -     | -     | 0.852 | -     | -     |
| 22 | Terpene ketone        | - | -     | -     | 0.418 | -     | -     |
| 23 | Cyclic ether          | - | -     | -     | -     | 5.263 | 1.502 |

Bảng P1.1.10. Kết quả phân tích tương ứng (CA) của sáu giống lúa ở ba thời gian sinh trưởng 1, 3 và 5 tuần

| IR504        | F1     | F2      | TNG          | F1     | F2      |
|--------------|--------|---------|--------------|--------|---------|
| Eigenvalue   | 0.203  | 0.103   | Eigenvalue   | 0.636  | 0.172   |
| Inertia %    | 66.316 | 33.684  | Inertia %    | 78.678 | 21.322  |
| Cumulative % | 66.316 | 100.000 | Cumulative % | 78.678 | 100.000 |
| HLA          | F1     | F2      | NTH          | F1     | F2      |
| Eigenvalue   | 0.530  | 0.080   | Eigenvalue   | 0.179  | 0.092   |
| Inertia %    | 86.894 | 13.106  | Inertia %    | 66.151 | 33.849  |
| Cumulative % | 86.894 | 100.000 | Cumulative % | 66.151 | 100.000 |
| NTI          | F1     | F2      | HRO          | F1     | F2      |
| Eigenvalue   | 0.121  | 0.033   | Eigenvalue   | 0.246  | 0.072   |
| Inertia %    | 78.843 | 21.157  | Inertia %    | 77.410 | 22.590  |
| Cumulative % | 78.843 | 100.000 | Cumulative % | 77.410 | 100.000 |

1.3. Kết quả phân tích thống kê nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện che sáng đến sự tổng hợp các hợp chất trong trong lá lúa (sử dụng kết quả từ GC-MS)

Bảng P1.1.12. Tổng hợp phân loại các nhóm chất trong lá lúa của sáu giống lúa trong điều kiện không che sáng của sáu giống lúa

| Số tt | Phân loại hoá học/Bản chất | Điều kiện không che sáng |        |        |        |        |        |
|-------|----------------------------|--------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|       |                            | IR504                    | HRO    | NTI    | HLA    | TNG    | NTH    |
| 1     | Aliphatic Hydrocarbon      | -                        | -      | -      | 1.514  | -      | 0.558  |
| 2     | Cyclic hydrocarbon         | 1.809                    | 3.4    | 5.168  | 5.641  | 2.967  | 2.895  |
| 3     | Diterpenoid                | 24.925                   | 44.517 | 38.765 | 44.073 | 34.435 | 26.851 |
| 4     | Fatty acid                 | 2.375                    | -      | -      | -      | -      | -      |
| 5     | Fatty acid amide           | 0.631                    | -      | 0.877  | 1.147  | 0.541  | -      |
| 6     | Fatty acid ester           | 7.234                    | 2.194  | 2.927  | 1.525  | 3.426  | 6.772  |
| 7     | Fatty alcohol              | 0.922                    | -      | -      | -      | -      | -      |
| 8     | Fatty aldehyde             | 1.967                    | -      | -      | 0.397  | -      | -      |
| 9     | Fatty nitrile              | 1.143                    | 2.164  | 1.644  | 2.523  | 1.509  | 1.515  |
| 10    | Heterocyclic compound      | 1.498                    | -      | 0.932  | 0.494  | 0.923  | -      |
| 11    | Meroterpenoid              | 2.489                    | -      | 2.53   | 2.444  | 1.528  | 1.394  |
| 12    | Phenol                     | 0.569                    | 0.854  | -      | 0.622  | 0.785  | 0.538  |
| 13    | Phthalate ester            | 43.635                   | 39.397 | 38.302 | 31.815 | 46.896 | 50.216 |
| 14    | Steroid                    | 5.491                    | 4.1    | 5.321  | 3.332  | 4.62   | 3.285  |
| 15    | Terpene ketone             | -                        | -      | -      | 0.418  | -      | -      |
| 16    | Triterpenoid               | 5.309                    | -      | -      | 0.38   | 0.665  | -      |
| 17    | Aliphatic Amine            | -                        | 0.878  | -      | 0.669  | -      | -      |
| 18    | Benzaldehyde               | -                        | 2.495  | 2.031  | 1.745  | -      | 0.714  |
| 19    | Cyclic ether               | -                        | -      | 1.502  | -      | -      | 5.263  |
| 20    | Carboxylic acid ester      | -                        | -      | -      | 0.852  | -      | -      |
| 21    | Monoterpenoid              | -                        | -      | -      | 0.411  | 0.595  | -      |
| 22    | Alkyl alcohol              | -                        | -      | -      | -      | 0.519  | -      |
| 23    | Carbonitrile               | -                        | -      | -      | -      | 0.593  | -      |

Bảng P1.1.13. Tổng hợp phân loại các nhóm chất trong lá lúa của sáu giống lúa trong điều kiện che sáng 2 lớp lưới của sáu giống lúa

| Số tt | Phân loại hoá học/Bản chất | Điều kiện che sáng hai lớp lưới |        |        |        |        |        |
|-------|----------------------------|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|       |                            | IR504                           | HRO    | NTI    | HLA    | TNG    | NTH    |
| 1     | Aliphatic Hydrocarbon      | 39.867                          | 13.521 | 19.166 | -      | 29.137 | -      |
| 2     | Fatty acid                 | -                               | -      | -      | -      | -      | 8.793  |
| 3     | Fatty acid amide           | 3.181                           | 2.941  | -      | -      | 3.514  | -      |
| 4     | Fatty acid ester           | 24.995                          | 15.428 | 75.725 | 17.224 | 52.884 | 25.055 |
| 5     | Fatty aldehyde             | -                               | -      | -      | -      | 1.817  | 4.178  |
| 6     | Morphinan alkaloid         | 2.485                           | -      | -      | -      | -      | -      |
| 7     | Organosiloxane             | 15.311                          | 2.93   | -      | -      | -      | -      |
| 8     | Phthalate ester            | 2.179                           | -      | -      | -      | -      | -      |
| 9     | Terpene ketone             | 2.38                            | -      | -      | -      | 1.946  | -      |
| 10    | Triterpenoid               | 9.602                           | 7.77   | 5.109  | 35.779 | 6.628  | 18.018 |
| 11    | Phthalate ester derivative | -                               | 57.411 | -      | 46.997 | -      | 43.957 |
| 12    | Benzaldehyde               | -                               | -      | -      | -      | 4.074  | -      |

Bảng P1.1.14. Kết quả thống kê PCA của 6 giống lúa theo điều kiện che sáng

| IR504                      | F1     | F2      | NTH                        | F1     | F2      |
|----------------------------|--------|---------|----------------------------|--------|---------|
| Giá trị riêng (Eigenvalue) | 1.110  | 0.890   | Giá trị riêng (Eigenvalue) | 1.200  | 0.800   |
| Phần trăm biến thiên (%)   | 55.508 | 44.492  | Phần trăm biến thiên (%)   | 59.993 | 40.007  |
| Phần trăm tích lũy (%)     | 55.508 | 100.000 | Phần trăm tích lũy (%)     | 59.993 | 100.000 |
| Hệ số tải nhân tố          |        |         | Hệ số tải nhân tố          |        |         |
| Không che bóng             | 0.745  | 0.667   | Không che bóng             | 0.775  | 0.633   |
| Che bóng                   | -0.745 | 0.667   | Che bóng                   | -0.775 | 0.633   |
| Điểm nhân tố               |        |         | Điểm nhân tố               |        |         |
| Aliphatic Hydrocarbon      | -2.658 | 1.932   | Aliphatic hydrocarbon      | 0.056  | -0.703  |
| Cyclic hydrocarbon         | 0.127  | -0.617  | Benzaldehyde               | 0.064  | -0.695  |
| Diterpenoid                | 1.638  | 0.895   | Cyclic ether               | 0.305  | -0.454  |
| Fatty acid                 | 0.164  | -0.580  | Cyclic hydrocarbon         | 0.180  | -0.579  |
| Fatty acid amide           | -0.163 | -0.481  | Diterpenoid                | 1.449  | 0.689   |
| Fatty acid ester           | -1.190 | 1.410   | Fatty Acid                 | -0.474 | -0.232  |
| Fatty alcohol              | 0.069  | -0.675  | Fatty acid ester           | -1.042 | 1.053   |
| Fatty aldehyde             | 0.137  | -0.606  | Fatty aldehyde             | -0.211 | -0.495  |
| Fatty nitrile              | 0.083  | -0.660  | Fatty nitrile              | 0.107  | -0.652  |
| Heterocyclic compound      | 0.106  | -0.637  | Meroterpenoid              | 0.100  | -0.659  |
| Meroterpenoid              | 0.171  | -0.572  | Phenol                     | 0.055  | -0.704  |
| Morphinan alkaloid         | -0.158 | -0.569  | Phthalate ester            | 2.686  | 1.927   |
| Organosiloxane             | -1.016 | 0.289   | Phthalate ester derivative | -2.477 | 1.770   |
| Phenol                     | 0.045  | -0.698  | Steroid                    | 0.201  | -0.559  |
| Phthalate ester            | 2.716  | 2.264   | Triterpenoid               | -0.999 | 0.293   |
| Steroid                    | 0.367  | -0.376  |                            |        |         |
| Terpene ketone             | -0.151 | -0.576  |                            |        |         |
| Triterpenoid               | -0.287 | 0.255   |                            |        |         |

| <b>TNG</b>                    | <b>F1</b> | <b>F2</b> |
|-------------------------------|-----------|-----------|
| Giá trị riêng<br>(Eigenvalue) | 1.122     | 0.878     |
| Phần trăm biến thiên<br>(%)   | 56.092    | 43.908    |
| Phần trăm tích lũy<br>(%)     | 56.092    | 100.000   |
| Hệ số tải nhân tố             |           |           |
| Không che bóng                | 0.749     | 0.663     |
| Che bóng                      | -0.749    | 0.663     |
| Điểm nhân tố                  |           |           |
| Aliphatic hydrocarbon         | -1.567    | 0.946     |
| Alkyl alcohol                 | 0.014     | -0.578    |
| Benzaldehyde                  | -0.232    | -0.390    |
| Carbonitrile                  | 0.019     | -0.573    |
| Cyclic hydrocarbon            | 0.151     | -0.441    |
| Diterpenoid                   | 1.911     | 1.319     |
| Fatty acid amide              | -0.172    | -0.389    |
| Fatty acid ester              | -2.641    | 2.403     |
| Fatty aldehyde                | -0.111    | -0.510    |
| Fatty nitrile                 | 0.070     | -0.522    |
| Heterocyclic compound         | 0.037     | -0.555    |
| Meroterpenoid                 | 0.071     | -0.521    |
| Monoterpenoid                 | 0.019     | -0.573    |
| Phenol                        | 0.029     | -0.563    |
| Phthalate ester               | 2.607     | 2.015     |
| Steroid                       | 0.244     | -0.348    |
| Terpene ketone                | -0.118    | -0.503    |
| Triterpenoid                  | -0.331    | -0.216    |

| <b>NTI</b>                    | <b>F1</b> | <b>F2</b> |
|-------------------------------|-----------|-----------|
| Giá trị riêng<br>(Eigenvalue) | 1.157     | 0.843     |
| Phần trăm biến thiên<br>(%)   | 57.831    | 42.169    |
| Phần trăm tích lũy<br>(%)     | 57.831    | 100.000   |
| Hệ số tải nhân tố             |           |           |
| Không che bóng                | 0.760     | 0.649     |
| Che bóng                      | -0.760    | 0.649     |
| Điểm nhân tố                  |           |           |
| Aliphatic hydrocarbon         | -0.810    | -0.011    |
| Benzaldehyde                  | -0.034    | -0.570    |
| Cyclic ether                  | -0.063    | -0.598    |
| Cyclic hydrocarbon            | 0.133     | -0.403    |
| Diterpenoid                   | 1.927     | 1.391     |
| Fatty acid amide              | -0.096    | -0.632    |
| Fatty acid ester              | -2.624    | 2.115     |
| Fatty nitrile                 | -0.055    | -0.591    |
| Heterocyclic compound         | -0.093    | -0.629    |
| Meroterpenoid                 | -0.008    | -0.543    |

| <b>HRO</b>                    | <b>F1</b> | <b>F2</b> |
|-------------------------------|-----------|-----------|
| Giá trị riêng<br>(Eigenvalue) | 1.229     | 0.771     |
| Phần trăm biến thiên<br>(%)   | 61.452    | 38.548    |
| Phần trăm tích lũy (%)        | 61.452    | 100.000   |
| Hệ số tải nhân tố             |           |           |
| Không che bóng                | 0.784     | 0.621     |
| Che bóng                      | -0.784    | 0.621     |
| Điểm nhân tố                  |           |           |
| Aliphatic Amine               | 0.031     | -0.650    |
| Aliphatic hydrocarbon         | -0.657    | -0.049    |
| Benzaldehyde                  | 0.111     | -0.570    |
| Cyclic hydrocarbon            | 0.156     | -0.526    |
| Diterpenoid                   | 2.188     | 1.507     |
| Fatty acid ester              | -0.640    | 0.150     |
| Fatty nitrile                 | 0.094     | -0.587    |
| Fatty acid amide              | -0.153    | -0.553    |
| Organosiloxane                | -0.152    | -0.554    |
| Phenol                        | 0.030     | -0.651    |
| Phthalate ester               | 1.935     | 1.254     |
| Phthalate ester derivative    | -2.749    | 2.043     |
| Steroid                       | 0.190     | -0.491    |
| Triterpenoid                  | -0.383    | -0.323    |

| <b>HLA</b>                    | <b>F1</b>  | <b>F2</b>   |
|-------------------------------|------------|-------------|
| Giá trị riêng<br>(Eigenvalue) | 1.171      | 0.829       |
| Phần trăm biến thiên (%)      | 58.53<br>0 | 41.470      |
| Phần trăm tích lũy (%)        | 58.53<br>0 | 100.00<br>0 |
| Hệ số tải nhân tố             |            |             |
| Không che bóng                | 0.765      | 0.644       |
| Che bóng                      | -0.765     | 0.644       |
| Điểm nhân tố                  |            |             |
| Aliphatic Amine               | 0.001      | -0.568      |
| Aliphatic hydrocarbon         | 0.053      | -0.516      |
| Benzaldehyde                  | 0.067      | -0.501      |
| Carboxylic acid ester         | 0.012      | -0.556      |
| Cyclic hydrocarbon            | 0.307      | -0.261      |
| Diterpenoid                   | 2.679      | 2.111       |
| Fatty acid amide              | 0.030      | -0.538      |
| Fatty acid ester              | -0.876     | 0.415       |
| Fatty aldehyde                | -0.016     | -0.584      |
| Fatty nitrile                 | 0.115      | -0.453      |
| Heterocyclic compound         | -0.010     | -0.578      |
| Meroterpenoid                 | 0.110      | -0.458      |

|                 |        |        |
|-----------------|--------|--------|
| Phthalate ester | 1.902  | 1.366  |
| Steroid         | 0.141  | -0.394 |
| Triterpenoid    | -0.321 | -0.501 |

|                            |        |        |
|----------------------------|--------|--------|
| Monoterpenoid              | -0.015 | -0.584 |
| Phenol                     | -0.002 | -0.571 |
| Phthalate ester            | 1.923  | 1.354  |
| Phthalate ester derivative | -2.578 | 1.928  |
| Steroid                    | 0.165  | -0.403 |
| Terpene ketone             | -0.015 | -0.583 |
| Triterpenoid               | -1.949 | 1.346  |

Bảng P1.1.15. Kết quả thống kê CA của 06 giống lúa theo điều kiện che sáng

|                             |          |
|-----------------------------|----------|
| Chi-square (Observed value) | 2164.515 |
| Chi-square (Critical value) | 314.678  |
| DF                          | 275      |
| p-value                     | <0.0001  |
| alpha                       | 0.05     |

| Eigenvalues and percentages of inertia |        |        |
|----------------------------------------|--------|--------|
|                                        | F1     | F2     |
| Eigenvalue                             | 0.871  | 0.479  |
| Inertia %                              | 48.300 | 26.567 |
| Cumulative %                           | 48.300 | 74.868 |

Bảng P1.1.16. Kết quả phân tích cụm (AHC) của 06 giống lúa theo điều kiện che sáng

Dissimilarity: Euclidean distance  
 Agglomeration method: Ward's method  
 Center: Yes / Reduce: Yes

**Agglomerative hierarchical clustering (AHC) / Number of clusters = 2:**  
 Inertia decomposition for the optimal classification:

|                  | Absolute  | Percent |
|------------------|-----------|---------|
| Within-cluster   | 9590.567  | 38.75%  |
| Between-clusters | 15160.351 | 61.25%  |
| Total inertia    | 24750.918 | 100.00% |

Results by cluster:

| Cluster                      | 1        | 2        |
|------------------------------|----------|----------|
| Number of objects by cluster | 6        | 6        |
| Sum of weights               | 6        | 6        |
| Within-cluster variance      | 137.541  | 1780.572 |
| Minimum distance to centroid | 5.465    | 29.238   |
| Average distance to centroid | 10.142   | 38.068   |
| Maximum distance to centroid | 13.675   | 48.469   |
|                              | IR504-KC | IR504-C  |
|                              | HRO-KC   | HRO-C    |
|                              | NTI-KC   | NTI-C    |
|                              | HLA-KC   | HLA-C    |
|                              | TNG-KC   | TNG-C    |
|                              | NTH-KC   | NTH-C    |

Results by object:

| Observation | Cluster | Distance to centroid |
|-------------|---------|----------------------|
| IR504-KC    | 1       | 12.735               |
| IR504-C     | 2       | 37.762               |
| HRO-KC      | 1       | 9.870                |
| HRO-C       | 2       | 38.916               |
| NTI-KC      | 1       | 5.465                |
| NTI-C       | 2       | 48.469               |
| HLA-KC      | 1       | 13.675               |
| HLA-C       | 2       | 40.069               |
| TNG-KC      | 1       | 5.769                |
| TNG-C       | 2       | 33.953               |
| NTH-KC      | 1       | 13.339               |
| NTH-C       | 2       | 29.238               |

## 2. Kết quả phân tích thống kê ảnh hưởng của các điều kiện chế biến BLL (phương pháp bất hoạt enzyme, dung môi ly trích, sấy phun và thời gian bảo quản)

Bảng P1.2.1. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của các điều kiện xử lý enzyme lên tổn thất chlorophyll trong trong lá lúa

ANOVA Table for CHLOROPHYLL by DK XU LY

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 1363.78        | 14 | 97.4128     | 313.39  | 0.0000  |
| Within groups  | 9.32492        | 30 | 0.310831    |         |         |
| Total (Corr.)  | 1373.1         | 44 |             |         |         |

### Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by DK XU LY

Method: 95.0 percent Duncan

| DK XU LY    | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------|-------|---------|--------------------|
| Chan 1p     | 3     | 5.84076 | X                  |
| Chan 2p     | 3     | 5.91641 | X                  |
| Chan 3p     | 3     | 6.02176 | X                  |
| Chan 4p     | 3     | 6.44324 | X                  |
| Vi song 1p  | 3     | 7.42152 | X                  |
| Vi song 2p  | 3     | 9.81306 | X                  |
| Chan 5p     | 3     | 10.8321 | X                  |
| Vi song 3p  | 3     | 12.1091 | X                  |
| Sieu am 5p  | 3     | 14.987  | X                  |
| Sieu am 10p | 3     | 16.9172 | X                  |
| Vi song 4p  | 3     | 18.7282 | X                  |
| Sieu am 15p | 3     | 18.8038 | X                  |
| Vi song 5p  | 3     | 18.8815 | X                  |
| Sieu am 20p | 3     | 19.4028 | XX                 |
| Sieu am 25p | 3     | 20.3322 | X                  |

Bảng P1.2.2. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của các điều kiện xử lý enzyme lên tổn thất polyphenol trong lá lúa

ANOVA Table for POLYPHENOL by DK XU LY

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 800.242        | 14 | 57.1601     | 366.67  | 0.0000  |
| Within groups  | 4.67664        | 30 | 0.155888    |         |         |
| Total (Corr.)  | 804.918        | 44 |             |         |         |

### Multiple Range Tests for POLYPHENOL by DK XU LY

Method: 95.0 percent Duncan

| DK XU LY    | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------|-------|---------|--------------------|
| Sieu am 5p  | 3     | 2.2     | X                  |
| Sieu am 10p | 3     | 3.15676 | X                  |
| Vi song 1p  | 3     | 3.19113 | X                  |
| Vi song 2p  | 3     | 3.35104 | X                  |
| Chan 1p     | 3     | 3.48229 | XX                 |
| Chan 2p     | 3     | 3.75305 | XX                 |
| Vi song 3p  | 3     | 4.14972 | X                  |
| Chan 3p     | 3     | 5.20563 | X                  |
| Sieu am 15p | 3     | 5.55124 | X                  |
| Vi song 4p  | 3     | 6.39351 | X                  |
| Vi song 5p  | 3     | 7.55655 | X                  |
| Chan 4p     | 3     | 7.87569 | X                  |
| Sieu am 20p | 3     | 8.79608 | X                  |
| Chan 5p     | 3     | 14.8366 | X                  |
| Sieu am 25p | 3     | 17.1639 | X                  |

Bảng P1.2.3. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của các điều kiện xử lý enzyme lên tỷ lệ ức chế enzyme polyphenol oxidase trong trong lá lúa

ANOVA Table for PPO by DK XU LY

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 20615.9        | 14 | 1472.57     | 580.31  | 0.0000  |
| Within groups  | 76.1266        | 30 | 2.53755     |         |         |

|               |         |    |  |  |  |
|---------------|---------|----|--|--|--|
| Total (Corr.) | 20692.1 | 44 |  |  |  |
|---------------|---------|----|--|--|--|

**Multiple Range Tests for PPO by DK XU LY**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>DK XU LY</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-----------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Vi song 1p      | 3            | 16.5722     | X                         |
| Sieu am 5p      | 3            | 22.1259     | X                         |
| Sieu am 15p     | 3            | 26.0516     | X                         |
| Sieu am 10p     | 3            | 26.6081     | X                         |
| Vi song 2p      | 3            | 29.7457     | X                         |
| Sieu am 25p     | 3            | 33.4527     | X                         |
| Vi song 3p      | 3            | 34.8478     | X                         |
| Sieu am 20p     | 3            | 34.9697     | X                         |
| Chan 1p         | 3            | 39.2019     | X                         |
| Vi song 4p      | 3            | 39.9781     | X                         |
| Vi song 5p      | 3            | 43.3081     | X                         |
| Chan 2p         | 3            | 57.1171     | X                         |
| Chan 3p         | 3            | 75.7217     | X                         |
| Chan 4p         | 3            | 83.9833     | X                         |
| Chan 5p         | 3            | 85.5679     | X                         |

Bảng P1.2.4. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của sử dụng dung môi ethanol ly trích lên hàm lượng tổng chlorophyll trong lá lúa

**Analysis of Variance for CHLOROPHYLL - Type III Sums of Squares**

| <i>Source</i>     | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| MAIN EFFECTS      |                       |           |                    |                |                |
| A:NONG DO         | 109167.               | 4         | 27291.7            | 148.37         | 0.0000         |
| B:TY LE           | 34961.0               | 2         | 17480.5            | 95.03          | 0.0000         |
| INTERACTIONS      |                       |           |                    |                |                |
| AB                | 10140.8               | 8         | 1267.61            | 6.89           | 0.0000         |
| RESIDUAL          | 5518.3                | 30        | 183.943            |                |                |
| TOTAL (CORRECTED) | 159787.               | 44        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by NONG DO**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>NONG DO</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|----------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 0%             | 9            | 1160.06        | 4.52086         | X                         |
| 20%            | 9            | 1234.01        | 4.52086         | X                         |
| 40%            | 9            | 1252.53        | 4.52086         | X                         |
| 60%            | 9            | 1290.46        | 4.52086         | X                         |
| 80%            | 9            | 1296.83        | 4.52086         | X                         |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by TY LE**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>TY LE</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|--------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 5:1          | 15           | 1208.7         | 3.50184         | X                         |
| 15:1         | 15           | 1256.98        | 3.50184         | X                         |
| 10:1         | 15           | 1274.64        | 3.50184         | X                         |

Bảng P1.2.5. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của sử dụng dung môi ethanol ly trích lên hàm lượng polyphenol trong lá lúa

**Analysis of Variance for POLYPHENOL - Type III Sums of Squares**

| <i>Source</i>     | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| MAIN EFFECTS      |                       |           |                    |                |                |
| A:NONG DO         | 0.683774              | 4         | 0.170944           | 21.97          | 0.0000         |
| B:TY LE           | 5.59858               | 2         | 2.79929            | 359.70         | 0.0000         |
| INTERACTIONS      |                       |           |                    |                |                |
| AB                | 0.377861              | 8         | 0.0472326          | 6.07           | 0.0001         |
| RESIDUAL          | 0.23347               | 30        | 0.00778232         |                |                |
| TOTAL (CORRECTED) | 6.89368               | 44        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by NONG DO**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>NONG DO</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|----------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| 0%             | 9            | 4.21678        | 0.0294058       | X                         |
| 20%            | 9            | 4.39828        | 0.0294058       | X                         |
| 40%            | 9            | 4.49411        | 0.0294058       | X                         |

|     |   |         |           |   |
|-----|---|---------|-----------|---|
| 60% | 9 | 4.52795 | 0.0294058 | x |
| 80% | 9 | 4.55727 | 0.0294058 | x |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by TY LE**

Method: 95.0 percent Duncan

| TY LE | Count | LS Mean | LS Sigma  | Homogeneous Groups |
|-------|-------|---------|-----------|--------------------|
| 5:1   | 15    | 3.941   | 0.0227777 | x                  |
| 15:1  | 15    | 4.6612  | 0.0227777 | x                  |
| 10:1  | 15    | 4.71443 | 0.0227777 | x                  |

Bảng P1.2.6. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hàm lượng tổng chlorophyll của bột lá lúa non

**ANOVA Table for CHLOROPHYLL by DIEU KIEN SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 629266.        | 6  | 104878.     | 241.50  | 0.0000  |
| Within groups  | 6079.77        | 14 | 434.27      |         |         |
| Total (Corr.)  | 635345.        | 20 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by DIEU KIEN SAY**

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN SAY | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|---------------|-------|---------|--------------------|
| Say 160       | 3     | 921.803 | x                  |
| Say 150       | 3     | 1148.77 | x                  |
| Say 140       | 3     | 1190.54 | x                  |
| Say 130       | 3     | 1262.68 | x                  |
| Say 120       | 3     | 1309.15 | x                  |
| Say dong kho  | 3     | 1427.87 | x                  |
| Truoc khi say | 3     | 1480.16 | x                  |

Bảng P1.2.7. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hàm lượng chlorophyll a của bột lúa non

**ANOVA Table for CHLOROPHYLL A by DIEU KIEN SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 123085.        | 6  | 20514.2     | 106.22  | 0.0000  |
| Within groups  | 2703.78        | 14 | 193.127     |         |         |
| Total (Corr.)  | 125789.        | 20 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL A by DIEU KIEN SAY**

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN SAY | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|---------------|-------|---------|--------------------|
| Say 160       | 3     | 364.514 | x                  |
| Say 130       | 3     | 427.46  | x                  |
| Say 150       | 3     | 451.06  | xx                 |
| Say 140       | 3     | 451.496 | xx                 |
| Say 120       | 3     | 471.678 | x                  |
| Say dong kho  | 3     | 565.097 | x                  |
| Truoc khi say | 3     | 606.647 | x                  |

Bảng P1.2.8. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hàm lượng chlorophyll b của bột lúa non

**ANOVA Table for CHLOROPHYLL B by DIEU KIEN SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 238864.        | 6  | 39810.6     | 112.31  | 0.0000  |
| Within groups  | 4962.56        | 14 | 354.468     |         |         |
| Total (Corr.)  | 243826.        | 20 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL B by DIEU KIEN SAY**

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN SAY | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|---------------|-------|---------|--------------------|
| Say 160       | 3     | 557.605 | x                  |
| Say 150       | 3     | 698.1   | x                  |
| Say 140       | 3     | 739.454 | x                  |
| Say 130       | 3     | 835.669 | x                  |
| Say 120       | 3     | 837.937 | x                  |
| Say dong kho  | 3     | 863.263 | x                  |
| Truoc khi say | 3     | 874.009 | x                  |

Bảng P1.2.9. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hàm lượng tổng polyphenol của bột lúa non

**ANOVA Table for POLYPHENOL by DIEU KIEN SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 18.8772        | 6  | 3.1462      | 427.87  | 0.0000  |
| Within groups  | 0.102944       | 14 | 0.00735315  |         |         |
| Total (Corr.)  | 18.9802        | 20 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by DIEU KIEN SAY**

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN SAY | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|---------------|-------|---------|--------------------|
| Say 160       | 3     | 1.54597 | x                  |
| Say 150       | 3     | 1.84577 | x                  |
| Say 140       | 3     | 2.01953 | x                  |
| Say 130       | 3     | 2.46979 | x                  |
| Say 120       | 3     | 3.33458 | x                  |
| Say dong kho  | 3     | 3.64894 | x                  |
| Truoc khi say | 3     | 4.25519 | x                  |

Bảng P1.2.10. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hàm lượng tổng flavonoid của bột lá lúa non

**ANOVA Table for FLAVONOID by DK SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 2.30117        | 6  | 0.383528    | 480.06  | 0.0000  |
| Within groups  | 0.0111849      | 14 | 0.00079892  |         |         |
| Total (Corr.)  | 2.31236        | 20 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for FLAVONOID by DK SAY**

Method: 95.0 percent Duncan

| DK SAY        | Count | Mean     | Homogeneous Groups |
|---------------|-------|----------|--------------------|
| Say 160       | 3     | 0.961945 | x                  |
| Say 150       | 3     | 1.29482  | x                  |
| Say 140       | 3     | 1.37353  | x                  |
| Say 130       | 3     | 1.45245  | x                  |
| Say 120       | 3     | 1.51806  | x                  |
| Say dong kho  | 3     | 1.60958  | x                  |
| Truoc khi say | 3     | 2.13884  | x                  |

Bảng P1.2.11. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hoạt tính DPPH của bột lá lúa non

**ANOVA Table for DPPH by DIEU KIEN SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 11.2652        | 6  | 1.87754     | 5501.60 | 0.0000  |
| Within groups  | 0.00477779     | 14 | 0.000341271 |         |         |
| Total (Corr.)  | 11.27          | 20 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for DPPH by DIEU KIEN SAY**

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN SAY | Count | Mean     | Homogeneous Groups |
|---------------|-------|----------|--------------------|
| Say 160       | 3     | 0.944984 | x                  |
| Say 150       | 3     | 1.03543  | x                  |
| Say 140       | 3     | 1.20679  | x                  |
| Say 130       | 3     | 1.4165   | x                  |
| Say 120       | 3     | 2.21521  | x                  |
| Say dong kho  | 3     | 2.27471  | x                  |
| Truoc khi say | 3     | 3.05379  | x                  |

Bảng P1.2.12. Phân tích phương sai và so sánh Duncan ảnh hưởng của nhiệt độ sấy phun lên hàm lượng xơ tan của bột lúa non

**ANOVA Table for XO TAN by DIEU KIEN SAY**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 49328.8        | 6  | 8221.47     | 6.14    | 0.0025  |
| Within groups  | 18750.8        | 14 | 1339.34     |         |         |

|               |         |    |  |  |  |
|---------------|---------|----|--|--|--|
| Total (Corr.) | 68079.6 | 20 |  |  |  |
|---------------|---------|----|--|--|--|

### Multiple Range Tests for XO TAN by DIEU KIEN SAY

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>DIEU KIEN SAY</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|----------------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Truoc khi say        | 3            | 381.433     | X                         |
| Say 140              | 3            | 442.425     | XX                        |
| Say 130              | 3            | 451.049     | XXX                       |
| Say 160              | 3            | 461.257     | XXX                       |
| Say 150              | 3            | 461.749     | XXX                       |
| Say 120              | 3            | 499.317     | XX                        |
| Say dong kho         | 3            | 551.936     | X                         |

Bảng P1.2.13. Phân tích đa nhân tố Multiple Variable Analysis và phân tích cụm Cluster Analysis về mối tương quan giữa các giá trị sau chế biến bột lá lúa

### Spearman Rank Correlations

|               | CHLORO<br>PHYLL | CHLOROP<br>HYLL A | CHLORO<br>PHYLL B | POLYPHE<br>NOL | FLAVON<br>OID | DPPH   | XO TAN |
|---------------|-----------------|-------------------|-------------------|----------------|---------------|--------|--------|
| CHLOROPHYLL   |                 | 0.8351            | 0.9688            | 0.9805         | 0.9844        | 0.9792 | 0.2532 |
|               |                 | (21)              | (21)              | (21)           | (21)          | (21)   | (21)   |
|               |                 | 0.0002            | 0.0000            | 0.0000         | 0.0000        | 0.0000 | 0.2574 |
| CHLOROPHYLL A | 0.8351          |                   | 0.7312            | 0.8078         | 0.8221        | 0.8286 | 0.2325 |
|               | (21)            |                   | (21)              | (21)           | (21)          | (21)   | (21)   |
|               | 0.0002          |                   | 0.0011            | 0.0003         | 0.0002        | 0.0002 | 0.2985 |
| CHLOROPHYLL B | 0.9688          | 0.7312            |                   | 0.9571         | 0.9532        | 0.9364 | 0.2377 |
|               | (21)            | (21)              |                   | (21)           | (21)          | (21)   | (21)   |
|               | 0.0000          | 0.0011            |                   | 0.0000         | 0.0000        | 0.0000 | 0.2878 |
| POLYPHENOL    | 0.9805          | 0.8078            | 0.9571            |                | 0.9909        | 0.9766 | 0.1961 |
|               | (21)            | (21)              | (21)              |                | (21)          | (21)   | (21)   |
|               | 0.0000          | 0.0003            | 0.0000            |                | 0.0000        | 0.0000 | 0.3805 |
| FLAVONOID     | 0.9844          | 0.8221            | 0.9532            | 0.9909         |               | 0.9792 | 0.2130 |
|               | (21)            | (21)              | (21)              | (21)           |               | (21)   | (21)   |
|               | 0.0000          | 0.0002            | 0.0000            | 0.0000         |               | 0.0000 | 0.3408 |
| DPPH          | 0.9792          | 0.8286            | 0.9364            | 0.9766         | 0.9792        |        | 0.2481 |
|               | (21)            | (21)              | (21)              | (21)           | (21)          |        | (21)   |
|               | 0.0000          | 0.0002            | 0.0000            | 0.0000         | 0.0000        | DPPH   | XO TAN |
| XO TAN        | 0.2532          | 0.2325            | 0.2377            | 0.1961         | 0.2130        | 0.9792 | 0.2532 |
|               | (21)            | (21)              | (21)              | (21)           | (21)          | (21)   | (21)   |
|               | 0.2574          | 0.2985            | 0.2878            | 0.3805         | 0.3408        | 0.0000 | 0.2574 |

Bảng P1.2.14. Phân tích cụm Cluster Analysis về mối tương quan giữa các giá trị sau chế biến bột lá lúa

Number of complete cases: 21; Clustering Method: Group Average; Distance Metric: Squared Euclidean; Clustering: variables; Standardized: yes

### Cluster Summary

| <i>Cluster</i> | <i>Members</i> | <i>Percent</i> |
|----------------|----------------|----------------|
| 1              | 6              | 85.71          |
| 2              | 1              | 14.29          |

### Membership Table

| <i>Variable</i> | <i>Cluster</i> |
|-----------------|----------------|
| CHLOROPHYLL     | 1              |
| CHLOROPHYLL A   | 1              |
| CHLOROPHYLL B   | 1              |
| POLYPHENOL      | 1              |
| FLAVONOID       | 1              |
| DPPH            | 1              |
| XO TAN          | 2              |

## Icicle Plot

| Variable   | Column | Number of Clusters |
|------------|--------|--------------------|
| -----      | -----  | -----              |
| CHLOROPHYL | 1      | XXXX               |
|            |        | XXXX               |
| CHLOROPHYL | 3      | XXXX               |

|            |   |       |
|------------|---|-------|
|            |   | X     |
| CHLOROPHYL | 2 | XX    |
|            |   | XX    |
| POLYPHENOL | 4 | XXXXX |
|            |   | XXXXX |
| DPPH       | 6 | XXXXX |
|            |   | XXX   |
| FLAVONOID  | 5 | XXX   |

XO TAN 7

**Agglomeration Schedule**

|              | <i>Combined</i>  | <i>Combined</i>  |                 | <i>Previous Stage</i> | <i>Previous Stage</i> | <i>Next</i>  |
|--------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------------|-----------------------|--------------|
| <i>Stage</i> | <i>Cluster 1</i> | <i>Cluster 2</i> | <i>Distance</i> | <i>Cluster 1</i>      | <i>Cluster 2</i>      | <i>Stage</i> |
| 1            | 4                | 6                | 0.540269        | 0                     | 0                     | 3            |
| 2            | 1                | 3                | 1.70915         | 0                     | 0                     | 5            |
| 3            | 4                | 5                | 3.42249         | 1                     | 0                     | 4            |
| 4            | 2                | 4                | 4.11688         | 0                     | 3                     | 5            |
| 5            | 1                | 2                | 5.68658         | 2                     | 4                     | 0            |

Bảng P1.2.15. Phân tích phương sai và so sánh Duncan nhiệt độ bảo quản và thời gian bảo quản lên hàm lượng tổng chlorophyll trong bột lá lúa non

**Analysis of Variance for CHLOROPHYLL - Type III Sums of Squares**

| <i>Source</i>     | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| MAIN EFFECTS      |                       |           |                    |                |                |
| A:DIEU KIEN       | 291144.               | 2         | 145572.            | 2394.24        | 0.0000         |
| B:THANG           | 6.88286E6             | 6         | 1.14714E6          | 18867.20       | 0.0000         |
| INTERACTIONS      |                       |           |                    |                |                |
| AB                | 108472.               | 12        | 9039.3             | 148.67         | 0.0000         |
| RESIDUAL          | 2553.64               | 42        | 60.801             |                |                |
| TOTAL (CORRECTED) | 7.28503E6             | 62        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by DIEU KIEN**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>DIEU KIEN</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|------------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| T PHONG          | 21           | 679.943        | 1.70155         | X                         |
| 5 C              | 21           | 745.502        | 1.70155         | X                         |
| (-18 C)          | 21           | 845.284        | 1.70155         | X                         |

**Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by THANG**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>THANG</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|--------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| Thang 6      | 9            | 337.357        | 2.59917         | X                         |
| Thang 5      | 9            | 432.373        | 2.59917         | X                         |
| Thang 4      | 9            | 552.327        | 2.59917         | X                         |
| Thang 3      | 9            | 767.841        | 2.59917         | X                         |
| Thang 2      | 9            | 841.945        | 2.59917         | X                         |
| Thang 1      | 9            | 995.301        | 2.59917         | X                         |
| Thang 0      | 9            | 1371.22        | 2.59917         | X                         |

Bảng P1.2.16. Phân tích phương sai và so sánh Duncan nhiệt độ bảo quản và thời gian bảo quản lên hàm lượng tổng polyphenol trong bột lá lúa non

**Analysis of Variance for POLYPHENOL - Type III Sums of Squares**

| <i>Source</i>     | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|-------------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| MAIN EFFECTS      |                       |           |                    |                |                |
| A:DIEU KIEN       | 1.00362               | 2         | 0.501812           | 1160.20        | 0.0000         |
| B:THANG           | 17.1556               | 6         | 2.85927            | 6610.71        | 0.0000         |
| INTERACTIONS      |                       |           |                    |                |                |
| AB                | 0.320156              | 12        | 0.0266797          | 61.68          | 0.0000         |
| RESIDUAL          | 0.0181659             | 42        | 0.000432521        |                |                |
| TOTAL (CORRECTED) | 18.4976               | 62        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for POLYPHENOL by DIEU KIEN**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>DIEU KIEN</i> | <i>Count</i> | <i>LS Mean</i> | <i>LS Sigma</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|------------------|--------------|----------------|-----------------|---------------------------|
| T PHONG          | 21           | 1.1555         | 0.00453831      | X                         |
| 5 C              | 21           | 1.29242        | 0.00453831      | X                         |

|         |    |         |            |   |
|---------|----|---------|------------|---|
| (-18 C) | 21 | 1.46402 | 0.00453831 | X |
|---------|----|---------|------------|---|

#### Multiple Range Tests for POLYPHENOL by THANG

Method: 95.0 percent Duncan

| THANG   | Count | LS Mean  | LS Sigma   | Homogeneous Groups |
|---------|-------|----------|------------|--------------------|
| Thang 6 | 9     | 0.810212 | 0.00693238 | X                  |
| Thang 5 | 9     | 0.914415 | 0.00693238 | X                  |
| Thang 4 | 9     | 0.994632 | 0.00693238 | X                  |
| Thang 3 | 9     | 1.10237  | 0.00693238 | X                  |
| Thang 2 | 9     | 1.24877  | 0.00693238 | X                  |
| Thang 1 | 9     | 1.6283   | 0.00693238 | X                  |
| Thang 0 | 9     | 2.42916  | 0.00693238 | X                  |

Bảng P1.2.17. Phân tích phương sai và so sánh Duncan nhiệt độ bảo quản và thời gian bảo quản lên hàm lượng xơ tan trong bột lá lúa non

#### Analysis of Variance for XO TAN - Type III Sums of Squares

| Source            | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS      |                |    |             |         |         |
| A:DIEU KIEN       | 921.116        | 2  | 460.558     | 0.51    | 0.6023  |
| B:THANG           | 182102.        | 6  | 30350.4     | 33.82   | 0.0000  |
| INTERACTIONS      |                |    |             |         |         |
| AB                | 20649.9        | 12 | 1720.83     | 1.92    | 0.0599  |
| RESIDUAL          | 37695.6        | 42 | 897.514     |         |         |
| TOTAL (CORRECTED) | 241369.        | 62 |             |         |         |

#### Multiple Range Tests for XO TAN by DIEU KIEN

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|-----------|-------|---------|----------|--------------------|
| 5 C       | 21    | 523.751 | 6.53749  | X                  |
| T PHONG   | 21    | 531.347 | 6.53749  | X                  |
| (-18 C)   | 21    | 532.295 | 6.53749  | X                  |

#### Multiple Range Tests for XO TAN by THANG

Method: 95.0 percent Duncan

| THANG   | Count | LS Mean | LS Sigma | Homogeneous Groups |
|---------|-------|---------|----------|--------------------|
| Thang 3 | 9     | 431.981 | 9.98618  | X                  |
| Thang 2 | 9     | 498.902 | 9.98618  | X                  |
| Thang 0 | 9     | 501.64  | 9.98618  | XX                 |
| Thang 6 | 9     | 529.186 | 9.98618  | XX                 |
| Thang 5 | 9     | 553.559 | 9.98618  | X                  |
| Thang 4 | 9     | 590.536 | 9.98618  | X                  |
| Thang 1 | 9     | 598.113 | 9.98618  | X                  |

Bảng P1.2.18. Phân tích phương sai và so sánh Duncan nhiệt độ bảo quản và thời gian bảo quản lên hoạt tính bắt gốc tự do DPPH trong bột lá lúa non

#### Analysis of Variance for DPPH - Type III Sums of Squares

| Source            | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS      |                |    |             |         |         |
| A:DIEU KIEN       | 1.17787        | 2  | 0.588934    | 1549.65 | 0.0000  |
| B:THANG           | 4.22832        | 6  | 0.70472     | 1854.32 | 0.0000  |
| INTERACTIONS      |                |    |             |         |         |
| AB                | 0.355238       | 12 | 0.0296032   | 77.89   | 0.0000  |
| RESIDUAL          | 0.0159618      | 42 | 0.000380042 |         |         |
| TOTAL (CORRECTED) | 5.77739        | 62 |             |         |         |

#### Multiple Range Tests for DPPH by DIEU KIEN

Method: 95.0 percent Duncan

| DIEU KIEN | Count | LS Mean | LS Sigma   | Homogeneous Groups |
|-----------|-------|---------|------------|--------------------|
| T PHONG   | 21    | 1.83657 | 0.00425409 | X                  |
| 5 C       | 21    | 2.06038 | 0.00425409 | X                  |
| (-18 C)   | 21    | 2.16427 | 0.00425409 | X                  |

#### Multiple Range Tests for DPPH by THANG

Method: 95.0 percent Duncan

| THANG   | Count | LS Mean | LS Sigma   | Homogeneous Groups |
|---------|-------|---------|------------|--------------------|
| Thang 6 | 9     | 1.61442 | 0.00649823 | X                  |
| Thang 5 | 9     | 1.77698 | 0.00649823 | X                  |
| Thang 4 | 9     | 1.91528 | 0.00649823 | X                  |

|         |   |         |            |   |
|---------|---|---------|------------|---|
| Thang 3 | 9 | 2.05005 | 0.00649823 | X |
| Thang 2 | 9 | 2.1176  | 0.00649823 | X |
| Thang 1 | 9 | 2.21735 | 0.00649823 | X |
| Thang 0 | 9 | 2.45118 | 0.00649823 | X |

### 3. Kết quả phân tích thống kê đánh giá hoạt tính chống oxy hoá của bột lá lúa

Bảng P1.3.1. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của chlorophyll theo nồng độ bột

ANOVA Table for CHLOROPHYLL by NONG DO BOT

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 445727.        | 9  | 49525.2     | 45.33   | 0.0000  |
| Within groups  | 21848.8        | 20 | 1092.44     |         |         |
| Total (Corr.)  | 467576.        | 29 |             |         |         |

#### Multiple Range Tests for CHLOROPHYLL by NONG DO BOT

Method: 95.0 percent Duncan

| NONG DO BOT | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------|-------|---------|--------------------|
| 1%          | 3     | 491.825 | X                  |
| 2%          | 3     | 556.907 | X                  |
| 3%          | 3     | 606.471 | XX                 |
| 4%          | 3     | 660.235 | XX                 |
| 5%          | 3     | 702.043 | XX                 |
| 6%          | 3     | 734.124 | X                  |
| 7%          | 3     | 792.035 | X                  |
| 8%          | 3     | 805.421 | XX                 |
| 9%          | 3     | 860.987 | XX                 |
| 10%         | 3     | 868.467 | X                  |

Bảng P1.3.2. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của hàm lượng tổng polyphenol theo nồng độ bột

ANOVA Table for POLYPHENOL by NONG DO BOT

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 3.18361        | 9  | 0.353735    | 98.91   | 0.0000  |
| Within groups  | 0.0715283      | 20 | 0.00357642  |         |         |
| Total (Corr.)  | 3.25514        | 29 |             |         |         |

#### Multiple Range Tests for POLYPHENOL by NONG DO BOT

Method: 95.0 percent Duncan

| NONG DO BOT | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------|-------|---------|--------------------|
| 1%          | 3     | 0.85808 | X                  |
| 2%          | 3     | 1.02809 | X                  |
| 3%          | 3     | 1.114   | XX                 |
| 4%          | 3     | 1.16766 | XX                 |
| 5%          | 3     | 1.244   | XX                 |
| 6%          | 3     | 1.34558 | X                  |
| 7%          | 3     | 1.45089 | X                  |
| 8%          | 3     | 1.54205 | X                  |
| 9%          | 3     | 1.79496 | X                  |
| 10%         | 3     | 1.95855 | X                  |

Bảng P1.3.3. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của hàm lượng tổng polyphenol theo nồng độ bột

ANOVA Table for XO TAN by NONG DO BOT

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 4281.58        | 9  | 475.732     | 0.26    | 0.9792  |
| Within groups  | 36891.9        | 20 | 1844.59     |         |         |
| Total (Corr.)  | 41173.5        | 29 |             |         |         |

#### Multiple Range Tests for XO TAN by NONG DO BOT

Method: 95.0 percent Duncan

| NONG DO BOT | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------|-------|---------|--------------------|
| 1%          | 3     | 590.717 | X                  |
| 5%          | 3     | 596.396 | X                  |
| 2%          | 3     | 599.598 | X                  |
| 3%          | 3     | 599.747 | X                  |
| 8%          | 3     | 600.785 | X                  |

|     |   |         |   |
|-----|---|---------|---|
| 6%  | 3 | 603.397 | X |
| 4%  | 3 | 608.243 | X |
| 7%  | 3 | 611.569 | X |
| 9%  | 3 | 625.205 | X |
| 10% | 3 | 630.205 | X |

Bảng P1.3.4. Phân tích đa nhân tố Multiple Variable Analysis mối tương quan giữa các giá trị theo nồng độ bột

**Spearman Rank Correlations**

|             | CHLOROPHYLL    | POLYPHENOL     | ABTS           | DPPH           | FRAP           | RP             | XO TAN         |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| CHLOROPHYLL |                | 0.9666<br>(30) | 0.9577<br>(30) | 0.9648<br>(30) | 0.9524<br>(30) | 0.9715<br>(30) | 0.3931<br>(30) |
|             |                | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0343         |
| POLYPHENOL  | 0.9666<br>(30) |                | 0.9711<br>(30) | 0.9835<br>(30) | 0.9804<br>(30) | 0.9826<br>(30) | 0.4291<br>(30) |
|             | 0.0000         |                | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0208         |
| ABTS        | 0.9577<br>(30) | 0.9711<br>(30) |                | 0.9840<br>(30) | 0.9875<br>(30) | 0.9915<br>(30) | 0.3691<br>(30) |
|             | 0.0000         | 0.0000         |                | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0469         |
| DPPH        | 0.9648<br>(30) | 0.9835<br>(30) | 0.9840<br>(30) |                | 0.9884<br>(30) | 0.9875<br>(30) | 0.4082<br>(30) |
|             | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         |                | 0.0000         | 0.0000         | 0.0279         |
| FRAP        | 0.9524<br>(30) | 0.9804<br>(30) | 0.9875<br>(30) | 0.9884<br>(30) |                | 0.9889<br>(30) | 0.3962<br>(30) |
|             | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         |                | 0.0000         | 0.0329         |
| RP          | 0.9715<br>(30) | 0.9826<br>(30) | 0.9915<br>(30) | 0.9875<br>(30) | 0.9889<br>(30) |                | 0.3677<br>(30) |
|             | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         | 0.0000         |                | 0.0477         |
| XO TAN      | 0.3931<br>(30) | 0.4291<br>(30) | 0.3691<br>(30) | 0.4082<br>(30) | 0.3962<br>(30) | 0.3677<br>(30) |                |
|             | 0.0343         | 0.0208         | 0.0469         | 0.0279         | 0.0329         | 0.0477         |                |

Bảng P1.3.5. Phân tích cụm Cluster Analysis về mối tương quan giữa các giá trị theo nồng độ bột

Number of complete cases: 30; Clustering Method: Median; Distance Metric: Squared Euclidean; Clustering: variables; Standardized: yes

**Cluster Summary**

| Cluster | Members | Percent |
|---------|---------|---------|
| 1       | 7       | 100.00  |

**Icicle Plot**

| Variable    | Column | Number of Clusters |
|-------------|--------|--------------------|
|             |        | 1234567            |
| ABTS        | 1      | XXXXX              |
|             |        | XXXXX              |
| DPPH        | 3      | XXXXXX             |
|             |        | XXXXXX             |
| RP          | 6      | XXXXXX             |
|             |        | XXXX               |
| POLYPHENOL  | 5      | XXXX               |
|             |        | XX                 |
| CHLOROPHYLL | 2      | XXX                |
|             |        | XXX                |
| FRAP        | 4      | XXX                |
|             |        | X                  |
| XO TAN      | 7      | X                  |

**Agglomeration Schedule**

|       | Combined  | Combined  |          | Previous Stage | Previous Stage | Next  |
|-------|-----------|-----------|----------|----------------|----------------|-------|
| Stage | Cluster 1 | Cluster 2 | Distance | Cluster 1      | Cluster 2      | Stage |
| 1     | 3         | 6         | 0.665583 | 0              | 0              | 2     |
| 2     | 1         | 3         | 0.619689 | 0              | 1              | 3     |
| 3     | 1         | 5         | 1.73932  | 2              | 0              | 5     |

|   |   |   |         |   |   |   |
|---|---|---|---------|---|---|---|
| 4 | 2 | 4 | 1.93112 | 0 | 0 | 5 |
| 5 | 1 | 2 | 2.21757 | 3 | 4 | 6 |
| 6 | 1 | 7 | 41.2859 | 5 | 0 | 0 |

#### 4. Kết quả phân tích thống kê đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của bột lá lúa

Bảng P1.4.1. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của hoạt tính kháng vi khuẩn *P. aeruginosa*

**ANOVA Table for DKVKK by NONG DO**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 2699.78        | 5  | 539.956     | 335.14  | 0.0000  |
| Within groups  | 19.3333        | 12 | 1.61111     |         |         |
| Total (Corr.)  | 2719.11        | 17 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for DKVKK by NONG DO**

Method: 95.0 percent Duncan

| NONG DO              | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|----------------------|-------|---------|--------------------|
| LL 500 mg/mL         | 3     | 0.0     | X                  |
| LL 1000 mg/mL        | 3     | 3.66667 | X                  |
| LL 2000 mg/mL        | 3     | 9.33333 | X                  |
| LL 4000 mg/mL        | 3     | 15.6667 | X                  |
| LL 8000 mg/mL        | 3     | 19.3333 | X                  |
| Ampicillin 100 ug/mL | 3     | 37.3333 | X                  |

Bảng P1.4.2. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của hoạt tính kháng vi khuẩn *S. aureus*

**ANOVA Table for DKVKK by NONG DO**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 1170.94        | 5  | 234.189     | 301.10  | 0.0000  |
| Within groups  | 9.33333        | 12 | 0.777778    |         |         |
| Total (Corr.)  | 1180.28        | 17 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for DKVKK by NONG DO**

Method: 95.0 percent Duncan

| NONG DO              | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|----------------------|-------|---------|--------------------|
| LL 500 mg/mL         | 3     | 5.33333 | X                  |
| LL 1000 mg/mL        | 3     | 12.6667 | X                  |
| LL 2000 mg/mL        | 3     | 16.0    | X                  |
| LL 4000 mg/mL        | 3     | 18.6667 | X                  |
| LL 8000 mg/mL        | 3     | 21.3333 | X                  |
| Ampicillin 100 ug/mL | 3     | 31.6667 | X                  |

Bảng P1.4.3. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli*

**ANOVA Table for DKVKK by NONG DO**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 466.938        | 5  | 93.3877     | 122.52  | 0.0000  |
| Within groups  | 9.14667        | 12 | 0.762222    |         |         |
| Total (Corr.)  | 476.085        | 17 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for DKVKK by NONG DO**

Method: 95.0 percent Duncan

| NONG DO              | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|----------------------|-------|---------|--------------------|
| LL 500 mg/mL         | 3     | 4.8     | X                  |
| LL 1000 mg/mL        | 3     | 8.56224 | X                  |
| LL 2000 mg/mL        | 3     | 12.2437 | X                  |
| LL 4000 mg/mL        | 3     | 16.2433 | X                  |
| LL 8000 mg/mL        | 3     | 20.24   | X                  |
| Ampicillin 100 ug/mL | 3     | 25.0133 | X                  |

Bảng P1.4.4. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của hoạt tính kháng nấm *C. albicans*

**ANOVA Table for DKVKN by NONGDO**

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 121.0          | 5  | 24.2        | 186.15  | 0.0000  |
| Within groups  | 1.56           | 12 | 0.13        |         |         |
| Total (Corr.)  | 122.56         | 17 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for DKVKN by NONGDO**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>NONGDO</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|---------------|--------------|-------------|---------------------------|
| LL 500 mg/mL  | 3            | 0.0         | X                         |
| LL 1000 mg/mL | 3            | 0.0         | X                         |
| LL 2000 mg/mL | 3            | 1.5         | X                         |
| LL 4000 mg/mL | 3            | 3.5         | X                         |
| LL 8000 mg/mL | 3            | 5.0         | X                         |
| Metronidazole | 3            | 7.0         | X                         |

## 5. Kết quả phân tích thống kê đánh giá tác động của bột lá lúa đối với hệ vi sinh vật đường ruột

Bảng P1.5.1. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của các chỉ số huyết học

### ANOVA Table for RED BLOOD CELL by Nhom

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 4.73483               | 3         | 1.57828            | 10.42          | 0.0039         |
| Within groups  | 1.21173               | 8         | 0.151467           |                |                |
| Total (Corr.)  | 5.94657               | 11        |                    |                |                |

### Multiple Range Tests for RED BLOOD CELL by Nhom

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 8.57        | X                         |
| PCDC        | 3            | 8.78        | X                         |
| PC300       | 3            | 9.68333     | X                         |
| PC150       | 3            | 10.0933     | X                         |

### ANOVA Table for HEMATOCRIT by Nhom

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 82.7228               | 3         | 27.5743            | 56.08          | 0.0000         |
| Within groups  | 3.93347               | 8         | 0.491683           |                |                |
| Total (Corr.)  | 86.6563               | 11        |                    |                |                |

### Multiple Range Tests for HEMATOCRIT by Nhom

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| PC300       | 3            | 39.2933     | X                         |
| PC150       | 3            | 40.5333     | X                         |
| Day 0       | 3            | 42.7667     | X                         |
| PCDC        | 3            | 46.2033     | X                         |

### ANOVA Table for HEMOGLOBIN by Nhom

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 6.94789               | 3         | 2.31596            | 5.22           | 0.0275         |
| Within groups  | 3.5502                | 8         | 0.443775           |                |                |
| Total (Corr.)  | 10.4981               | 11        |                    |                |                |

### Multiple Range Tests for HEMOGLOBIN by Nhom

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 11.5333     | X                         |
| PCDC        | 3            | 12.0333     | X                         |
| PC300       | 3            | 12.5267     | XX                        |
| PC150       | 3            | 13.59       | X                         |

### ANOVA Table for MCV by Nhom

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 6.15                  | 3         | 2.05               | 1.42           | 0.3079         |
| Within groups  | 11.5867               | 8         | 1.44833            |                |                |
| Total (Corr.)  | 17.7367               | 11        |                    |                |                |

### Multiple Range Tests for MCV by Nhom

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 49.8        | X                         |
| PC150       | 3            | 50.4        | X                         |
| PCDC        | 3            | 51.4333     | X                         |
| PC300       | 3            | 51.5        | X                         |

### ANOVA Table for MCH by Nhom

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 1.60503               | 3         | 0.535008           | 1.16           | 0.3836         |

|               |         |    |          |  |  |
|---------------|---------|----|----------|--|--|
| Within groups | 3.69407 | 8  | 0.461758 |  |  |
| Total (Corr.) | 5.29909 | 11 |          |  |  |

**Multiple Range Tests for MCH by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 13.7333     | X                         |
| PCDC        | 3            | 14.1233     | X                         |
| PC150       | 3            | 14.2867     | X                         |
| PC300       | 3            | 14.7533     | X                         |

**ANOVA Table for MCHC by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 18.5292               | 3         | 6.17639            | 11.94          | 0.0025         |
| Within groups  | 4.14                  | 8         | 0.5175             |                |                |
| Total (Corr.)  | 22.6692               | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for MCHC by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 29.4333     | X                         |
| PCDC        | 3            | 30.0333     | XX                        |
| PC150       | 3            | 31.3        | X                         |
| PC300       | 3            | 32.6667     | X                         |

**ANOVA Table for PLT by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 6003.24               | 3         | 2001.08            | 16.91          | 0.0008         |
| Within groups  | 946.826               | 8         | 118.353            |                |                |
| Total (Corr.)  | 6950.07               | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for PLT by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 283.379     | X                         |
| PCDC        | 3            | 293.337     | X                         |
| PC300       | 3            | 303.18      | X                         |
| PC150       | 3            | 342.357     | X                         |

**ANOVA Table for WBC by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 24.6026               | 3         | 8.20087            | 20.54          | 0.0004         |
| Within groups  | 3.19427               | 8         | 0.399283           |                |                |
| Total (Corr.)  | 27.7969               | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for WBC by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 4.65        | X                         |
| PCDC        | 3            | 5.4         | X                         |
| PC150       | 3            | 7.6         | X                         |
| PC300       | 3            | 8.04333     | X                         |

**ANOVA Table for NEU by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 1.8387                | 3         | 0.6129             | 142.53         | 0.0000         |
| Within groups  | 0.0344                | 8         | 0.0043             |                |                |
| Total (Corr.)  | 1.8731                | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for NEU by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 0.95        | X                         |
| PCDC        | 3            | 0.98        | X                         |
| PC300       | 3            | 1.7         | X                         |
| PC150       | 3            | 1.79        | X                         |

**ANOVA Table for LYM by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 8.97982               | 3         | 2.99328            | 2477.19        | 0.0000         |
| Within groups  | 0.00966667            | 8         | 0.00120833         |                |                |
| Total (Corr.)  | 8.98949               | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for LYM by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 2.75        | x                         |
| PCDC        | 3            | 3.37667     | x                         |
| PC150       | 3            | 4.7         | x                         |
| PC300       | 3            | 4.77        | x                         |

**ANOVA Table for MON by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 0.640625              | 3         | 0.213542           | 640.62         | 0.0000         |
| Within groups  | 0.00266667            | 8         | 0.000333333        |                |                |
| Total (Corr.)  | 0.643292              | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for MON by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 0.33        | x                         |
| PCDC        | 3            | 0.37        | x                         |
| PC150       | 3            | 0.466667    | x                         |
| PC300       | 3            | 0.91        | x                         |

**ANOVA Table for EOS by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 0.0105583             | 3         | 0.00351944         | 2.48           | 0.1350         |
| Within groups  | 0.0113333             | 8         | 0.00141667         |                |                |
| Total (Corr.)  | 0.0218917             | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for EOS by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| PCDC        | 3            | 0.133333    | x                         |
| Day 0       | 3            | 0.16        | xx                        |
| PC150       | 3            | 0.193333    | xx                        |
| PC300       | 3            | 0.21        | x                         |

**ANOVA Table for BAS by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 0.0327333             | 3         | 0.0109111          | 34.46          | 0.0001         |
| Within groups  | 0.00253333            | 8         | 0.000316667        |                |                |
| Total (Corr.)  | 0.0352667             | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for BAS by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| PC300       | 3            | 0.193333    | x                         |
| Day 0       | 3            | 0.273333    | x                         |
| PCDC        | 3            | 0.31        | x                         |
| PC150       | 3            | 0.33        | x                         |

**ANOVA Table for RDW CV by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 7.58333               | 3         | 2.52778            | 3.79           | 0.0585         |
| Within groups  | 5.33333               | 8         | 0.666667           |                |                |
| Total (Corr.)  | 12.9167               | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for RDW CV by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 13.0        | x                         |
| PCDC        | 3            | 13.6667     | xx                        |
| PC300       | 3            | 14.6667     | x                         |
| PC150       | 3            | 15.0        | x                         |

**ANOVA Table for RDW SD by Nhom**

| <i>Source</i>  | <i>Sum of Squares</i> | <i>Df</i> | <i>Mean Square</i> | <i>F-Ratio</i> | <i>P-Value</i> |
|----------------|-----------------------|-----------|--------------------|----------------|----------------|
| Between groups | 7.92917               | 3         | 2.64306            | 6.69           | 0.0143         |
| Within groups  | 3.16                  | 8         | 0.395              |                |                |
| Total (Corr.)  | 11.0892               | 11        |                    |                |                |

**Multiple Range Tests for RDW SD by Nhom**

Method: 95.0 percent Duncan

| <i>Nhom</i> | <i>Count</i> | <i>Mean</i> | <i>Homogeneous Groups</i> |
|-------------|--------------|-------------|---------------------------|
| Day 0       | 3            | 25.7667     | x                         |
| PCDC        | 3            | 26.6333     | x                         |
| PC300       | 3            | 27.0        | xx                        |

|       |   |         |   |
|-------|---|---------|---|
| PC150 | 3 | 28.0333 | X |
|-------|---|---------|---|

Bảng P1.5.2. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của trọng lượng chuột  
ANOVA Table for Weight gain by Nhóm

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 23.6177        | 2  | 11.8088     | 26.48   | 0.0000  |
| Within groups  | 18.7292        | 42 | 0.445934    |         |         |
| Total (Corr.)  | 42.3469        | 44 |             |         |         |

**Multiple Range Tests for Weight gain by Nhóm**

Method: 95.0 percent Duncan

| Nhóm  | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------|-------|---------|--------------------|
| 150mg | 15    | 1.50467 | X                  |
| DC    | 15    | 2.086   | X                  |
| 300mg | 15    | 3.24733 | X                  |

Bảng P1.5.3 Phân tích phương sai và so sánh Duncan của mật số vi khuẩn lactic acid  
ANOVA Table for LACTIC by Nhóm

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 5.36125        | 2  | 2.68063     | 127.43  | 0.0000  |
| Within groups  | 0.126216       | 6  | 0.021036    |         |         |
| Total (Corr.)  | 5.48747        | 8  |             |         |         |

**Multiple Range Tests for LACTIC by Nhóm**

Method: 95.0 percent Duncan

| NHOM              | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------------|-------|---------|--------------------|
| Đoi chung         | 3     | 6.39309 | X                  |
| Nhóm BLL 300mg/kg | 3     | 7.45367 | X                  |
| Nhóm BLL 150mg/kg | 3     | 8.3769  | X                  |

Bảng P1.5.4. Phân tích phương sai và so sánh Duncan của mật số vi khuẩn hiếu khí  
ANOVA Table for HIEU KHI by Nhóm

| Source         | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| Between groups | 1.59019        | 2  | 0.795093    | 135.61  | 0.0000  |
| Within groups  | 0.0351794      | 6  | 0.00586323  |         |         |
| Total (Corr.)  | 1.62536        | 8  |             |         |         |

**Multiple Range Tests for HIEU KHI by Nhóm**

Method: 95.0 percent Duncan

| NHOM              | Count | Mean    | Homogeneous Groups |
|-------------------|-------|---------|--------------------|
| Đoi chung         | 3     | 7.3331  | X                  |
| Nhóm BLL 300mg/kg | 3     | 8.3769  | X                  |
| Nhóm BLL 150mg/kg | 3     | 8.46771 | X                  |

## PHỤ LỤC 2. Hình ảnh, số liệu và các kết quả phân tích chỉ tiêu lá lúa

### 2.1. Ảnh hưởng của giống lúa, thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng đến hàm lượng các hợp chất và hoạt tính chống oxy hoá của lá lúa

#### 2.1.1. Kết quả đo cường độ ánh sáng



Hình P2.1. Điều kiện không che sáng

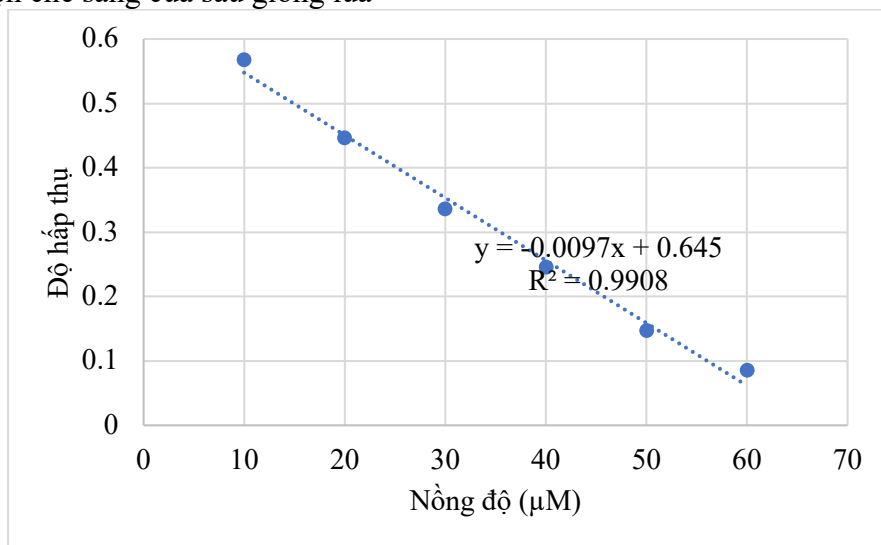


Hình P2.2. Điều kiện che sáng 1 lớp lưới

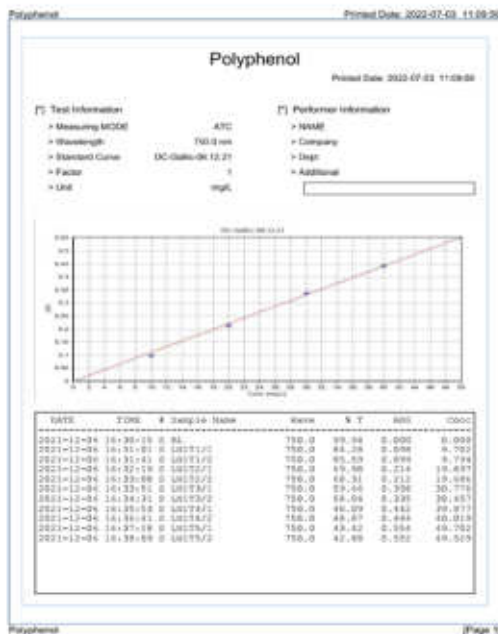


Hình P2.3. Điều kiện che sáng 2 lớp lưới

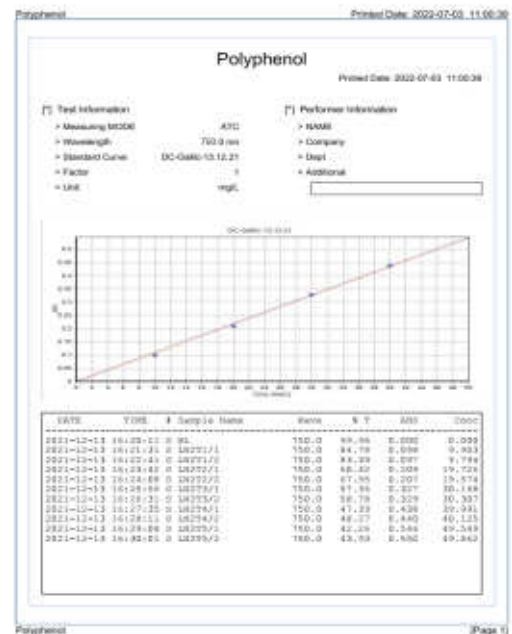
2.1.2. Một số hình ảnh bố trí thí nghiệm và phân tích các chỉ tiêu về thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng của sáu giống lúa



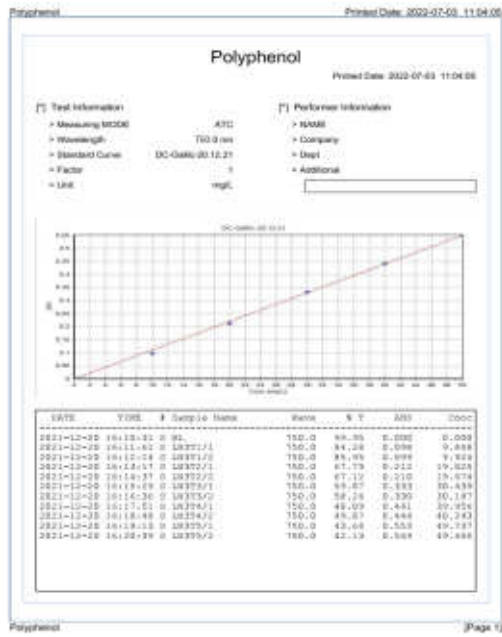
Hình P2.4. Xây dựng đường chuẩn Trolox



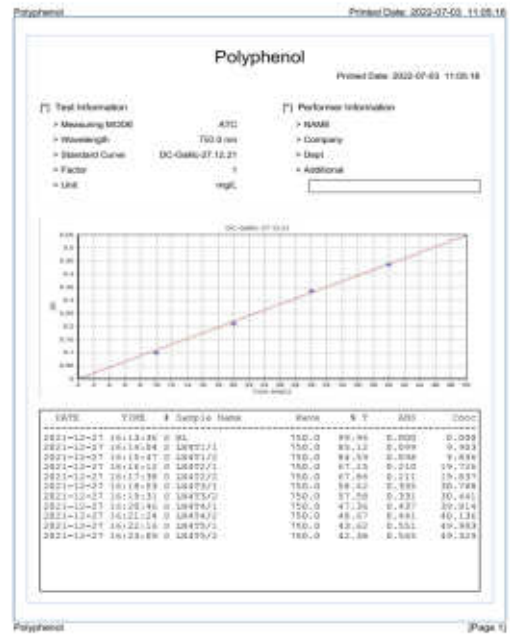
Hình P2.5. Đường chuẩn gallic acid (Tuần 1)



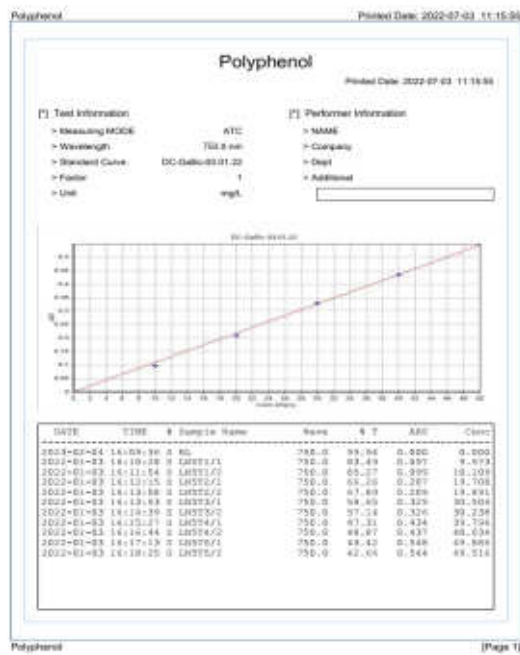
Hình P2.6. Đường chuẩn gallic acid (Tuần 2)



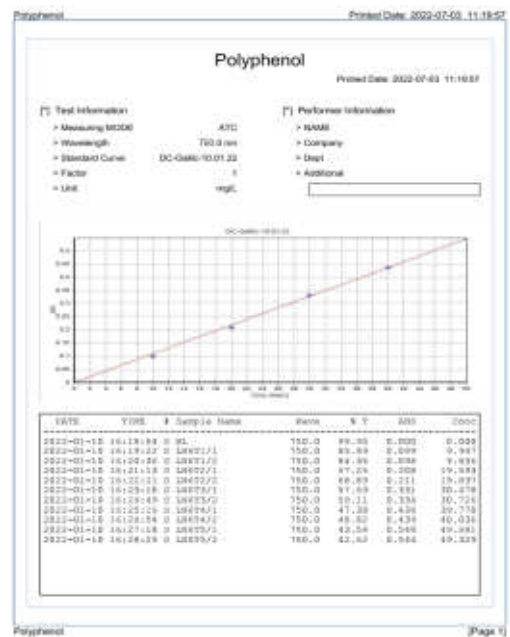
Hình P2.7. Đường chuẩn gallic acid (Tuần 3)



Hình P2.8. Đường chuẩn gallic acid (Tuần 4)



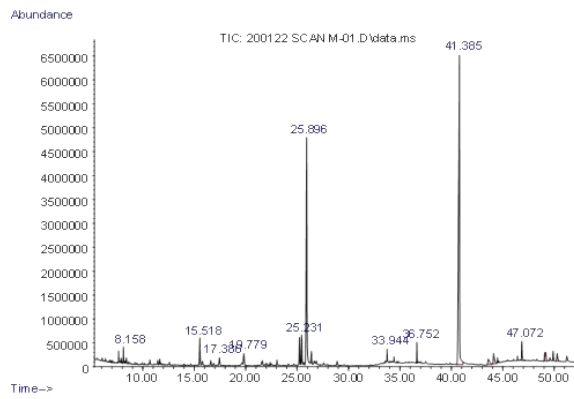
Hình P2.9. Đường chuẩn gallic acid (Tuần 5)



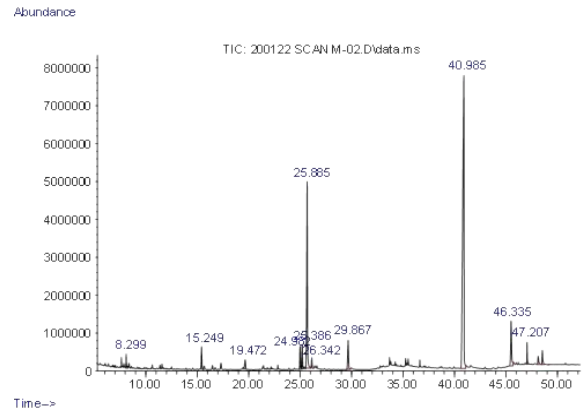
Hình P2.10. Đường chuẩn gallic acid (Tuần 6)

### 2.1.3. Biểu đồ sắc ký của các giống lúa theo thời gian sinh trưởng và điều kiện che sáng

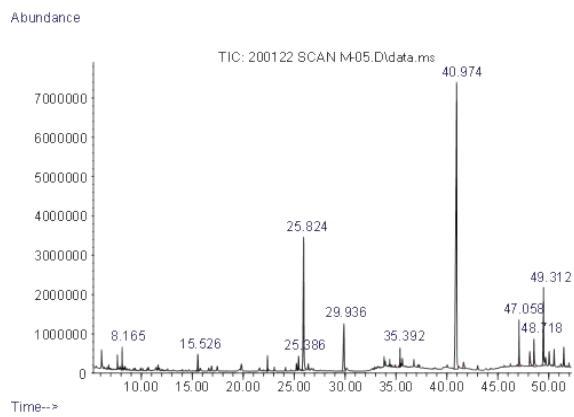
#### 2.1.3.1. Biểu đồ sắc ký của các giống lúa theo thời gian sinh trưởng 1, 3 và 5 tuần



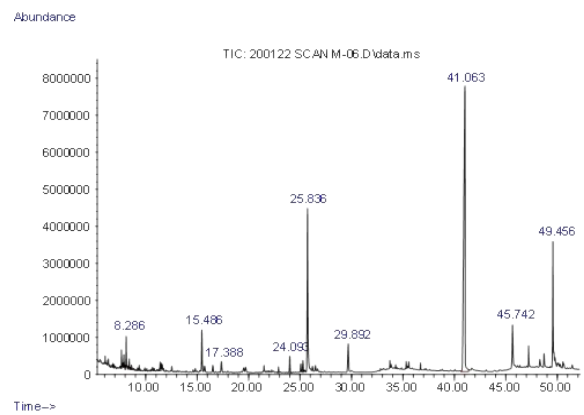
**IR504**



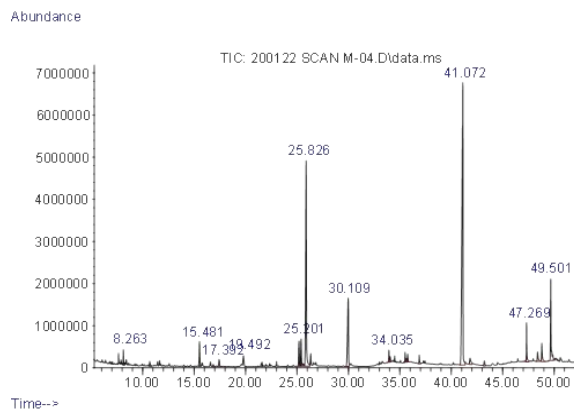
**NTH**



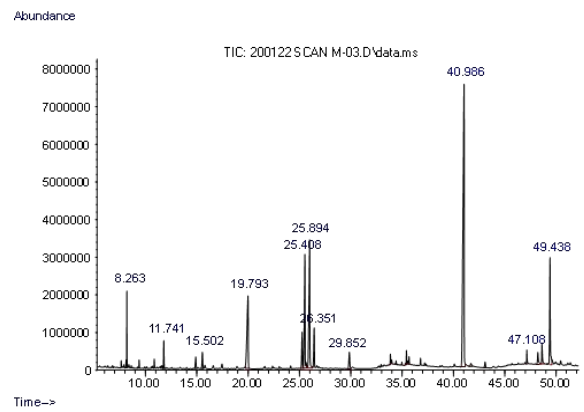
**NTI**



**HRO**

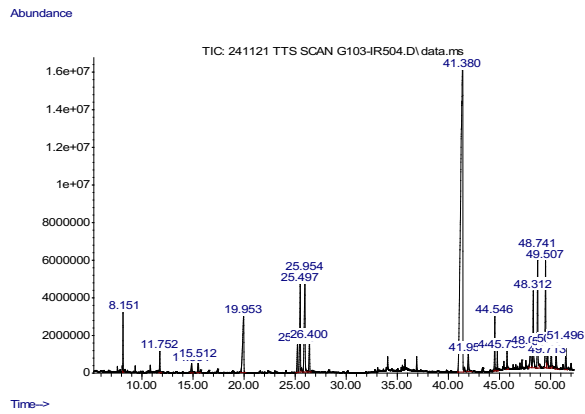
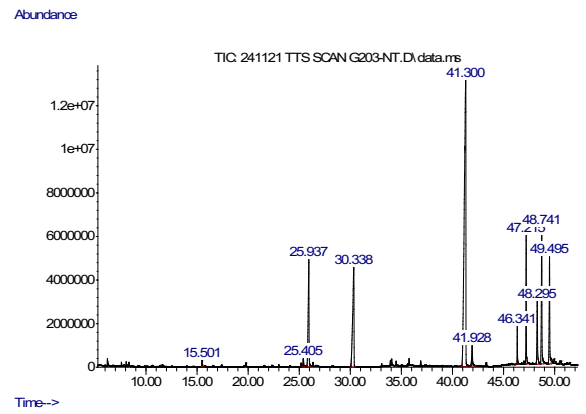
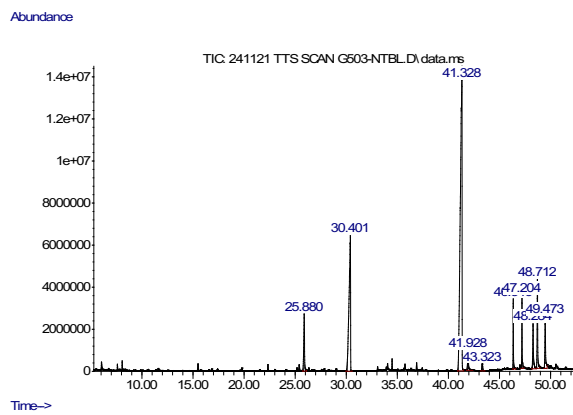
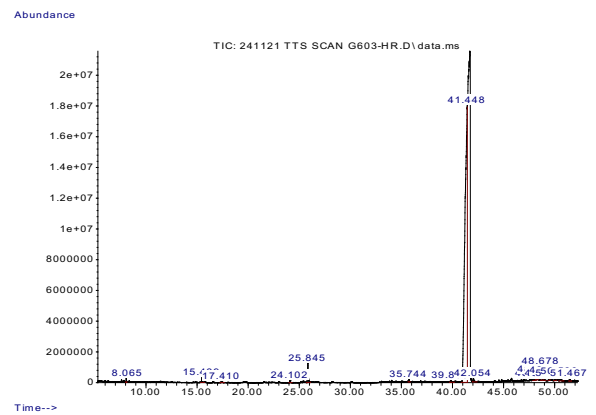
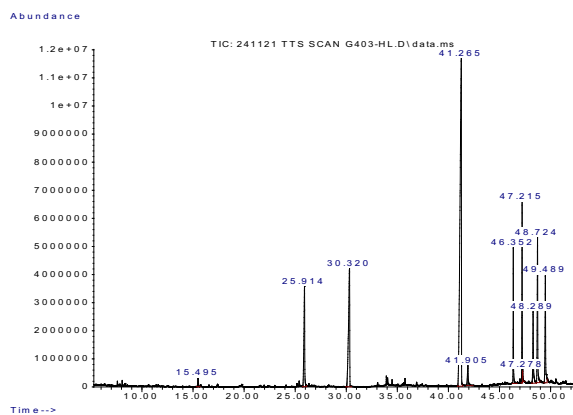
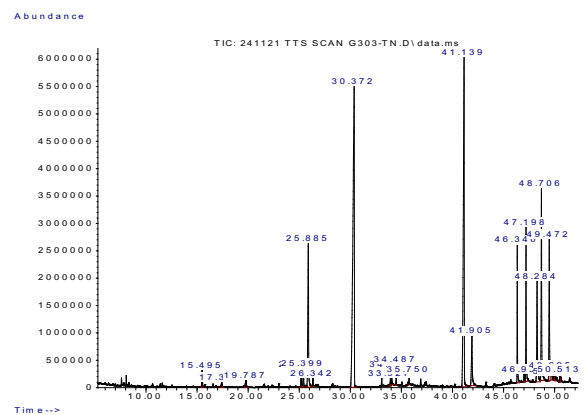


**HLA**

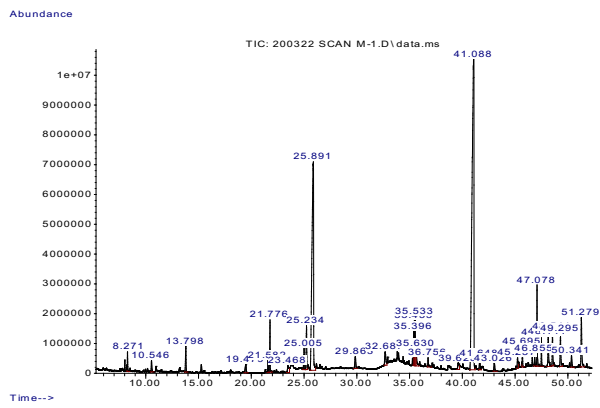
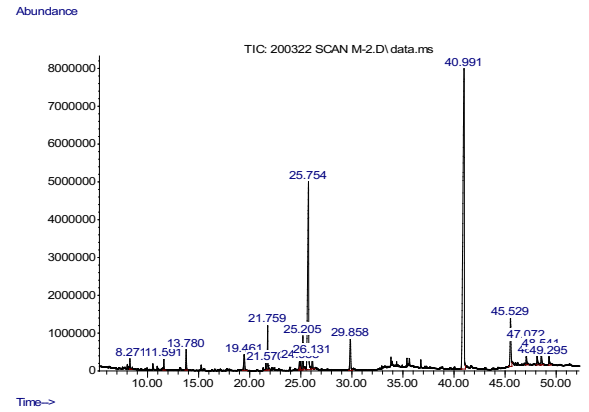
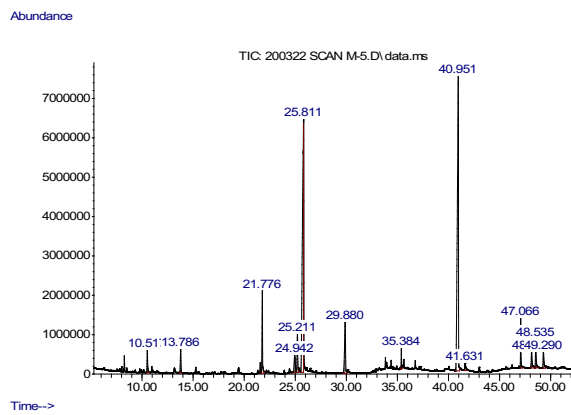
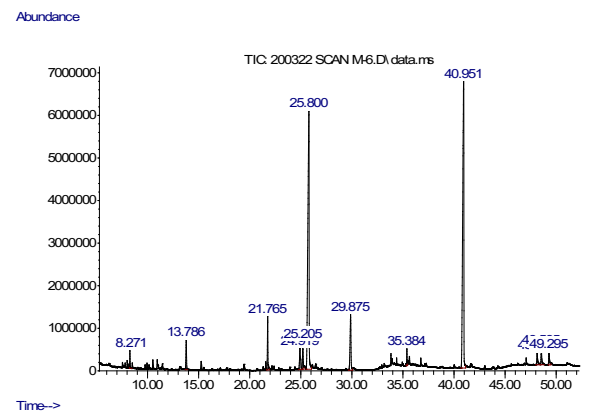
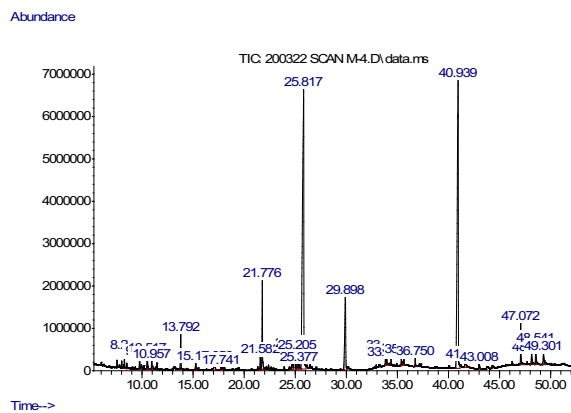
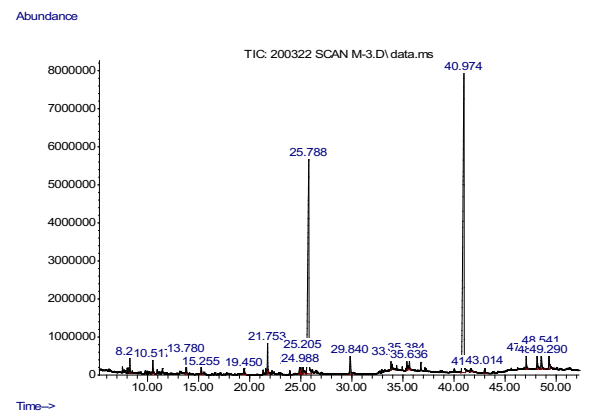


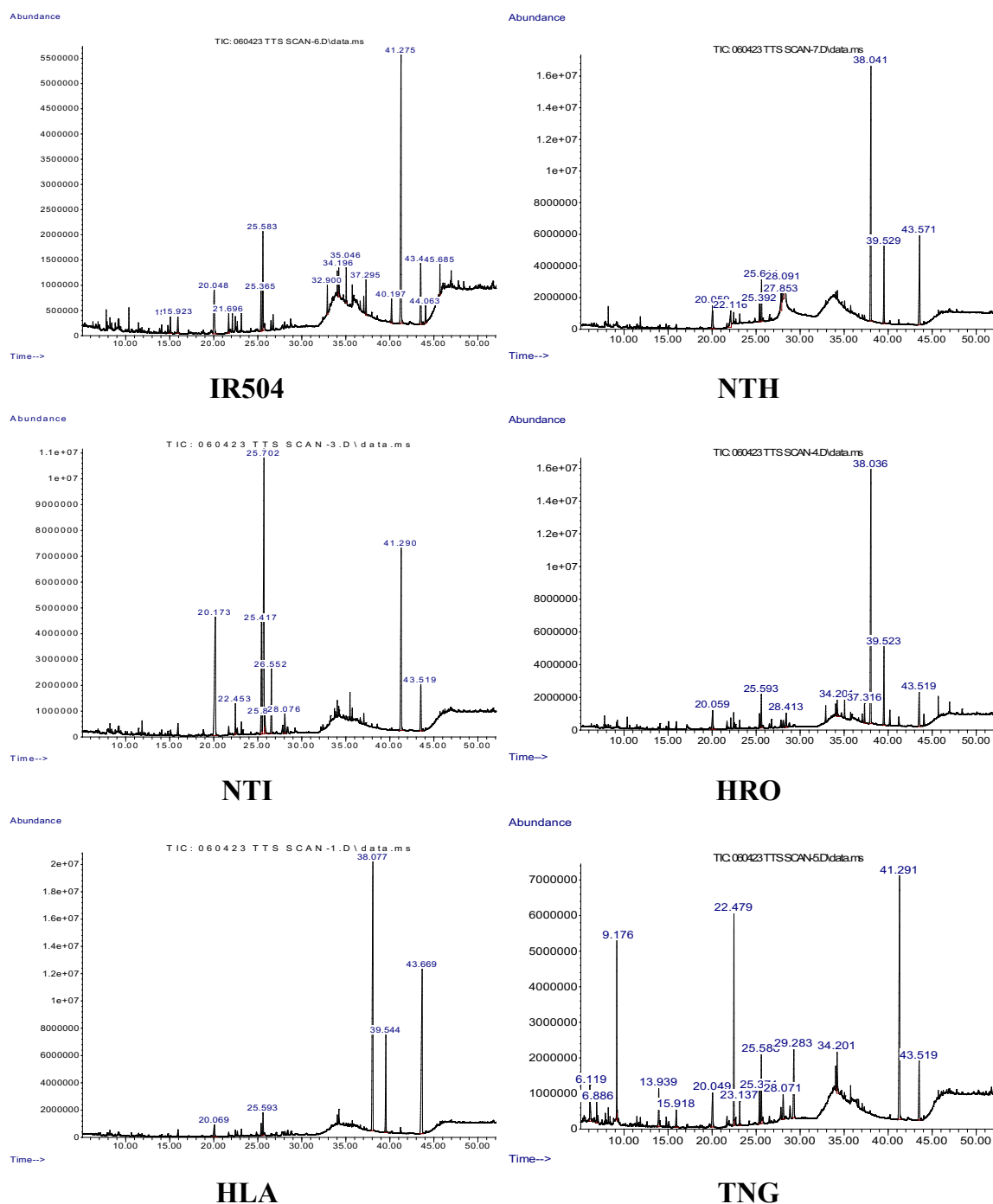
**TNG**

Hình P2.11. Sắc ký đồ của sáu giống lúa tuần 1

**IR504****NTH****NTI****HRO****HLA****TNG**

Hình P2.12. Sắc ký đồ của sáu giống lúa tuần 3

**IR504****NTH****NTI****HRO****HLA****TNG****Hình P2.13. Sắc ký đồ của sáu giống lúa tuần 5****2.1.3.2. Biểu đồ sắc ký của các giống lúa tuần 5 theo điều kiện che sáng 2 lớp lưới**



Hình P2.14. Sắc ký đồ của sáu giống lúa tuần 5 che sáng 2 lớp lưới

#### 2.1.4. Bảng thành phần hợp chất từ kết quả GC-MS

Bảng P2.1. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa IR504 giai đoạn tuần 1, 3 và 5

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được       | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại<br>hoá<br>học/Bản<br>chất |
|----------|-----------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------------|
|          |                             |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                                     |
| 1        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene     | 108,094                            |                  |           | 1,809     | Cyclic<br>hydrocarbon               |
| 2        | Bicyclo[10.1.0]tridec-1-ene | 178,172                            |                  | 0,728     |           | Cyclic<br>hydrocarbon               |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                    | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại<br>hoá<br>học/Bản<br>chất |
|----------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------------|
|          |                                                                          |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                                     |
| 3        | Phytol                                                                   | 296,308                            | 31,898           | 6,629     | 24,925    | Diterpenoid                         |
| 4        | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol                                   | 296,308                            | 1,009            |           |           | Diterpenoid                         |
| 5        | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                                         | 280,24                             |                  |           | 0,816     | Fatty acid                          |
| 6        | 6-Octadecenoic acid, (Z)-                                                | 282,256                            |                  |           | 1,107     | Fatty acid                          |
| 7        | 2-Chloroethyl linoleate                                                  | 342,233                            |                  |           | 0,452     | Fatty acid                          |
| 8        | 13-Docosenamide, (Z)-                                                    | 337,334                            |                  | 1,113     |           | Fatty acid<br>amide                 |
| 9        | Dodecanoic acid, methyl ester                                            | 214,193                            | 1,37             | 1,243     |           | Fatty acid<br>ester                 |
| 10       | Methyl tetradecanoate                                                    | 242,225                            |                  | 0,737     |           | Fatty acid<br>ester                 |
| 11       | 7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester                                  | 266,225                            |                  |           | 0,642     | Fatty acid<br>ester                 |
| 12       | Hexadecanoic acid, methyl ester                                          | 270,256                            | 1,17             | 5,462     | 0,586     | Fatty acid<br>ester                 |
| 13       | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-                    | 292,24                             | 3,468            |           | 2,11      | Fatty acid<br>ester                 |
| 14       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester                           | 2942,56                            |                  | 1,458     | 1,778     | Fatty acid<br>ester                 |
| 15       | 9-Octadecenoic acid, methyl ester                                        | 296,272                            |                  | 5,074     |           | Fatty acid<br>ester                 |
| 16       | Octadecanoic acid, methyl ester                                          | 298,287                            |                  | 1,595     |           | Fatty acid<br>ester                 |
| 17       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester | 354,277                            |                  |           | 2,118     | Fatty acid<br>ester                 |
| 18       | 9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-                                     | 264,245                            |                  |           | 0,922     | Fatty alcohol                       |
| 19       | 9-Octadecenal, (Z)-                                                      | 266,261                            |                  |           | 1,967     | Fatty aldehyde                      |
| 20       | Tetradecanenitrile                                                       | 209,214                            |                  |           | 1,143     | Fatty nitrile                       |
| 21       | 9-Octadecenamide, (Z)-                                                   | 281,272                            | 1,448            |           | 0,631     | Fatty acid<br>amide                 |
| 22       | 1-Oxaspiro[4.5]decan-2-one, 6-isopropenyl-9-methyl-                      | 208,146                            |                  |           | 0,483     | Heterocyclic compound               |
| 23       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-carbonylthiocarbohydroximate  | 261,115                            |                  |           | 1,015     | Heterocyclic compound               |
| 24       | Vitamin E                                                                | 430,381                            | 1,649            |           | 2,489     | Meroterpenoid                       |
| 25       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-    | 138,141                            | 2,652            | 0,693     |           | Monoterpene                         |
| 26       | Benzene, 1-methyl-3-[(2-methylpropyl)thio]-                              | 180,097                            |                  |           | 0,569     | Phenol                              |
| 27       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester                   | 278,152                            | 1,772            |           |           | Phthalate ester                     |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                                                   | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại<br>hoá<br>học/Bản<br>chất |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------------|
|          |                                                                                                         |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                                     |
| 28       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                                                             | 390,277                            |                  |           | 43,163    | Phthalate<br>ester                  |
| 29       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid,<br>diisooctyl ester                                                       | 390,277                            | 53,564           | 51,507    | 0,472     | Phthalate<br>ester                  |
| 30       | (-)-Spathulenol                                                                                         | 220,183                            |                  | 0,534     |           | Sesquiterpe<br>noid                 |
| 31       | Bicyclo[4.3.0]nonane, 7-<br>methylene-2,4,4-trimethyl-2-<br>vinyl-                                      | 204,188                            |                  | 0,574     |           | Sesquiterpe<br>noid                 |
| 32       | Cyclohexane, 1-ethenyl-1-<br>methyl-2,4-bis(1-<br>methylethenyl)-, [1S-<br>(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]- | 204,188                            |                  | 1,964     |           | Sesquiterpe<br>noid                 |
| 33       | Pregn-4-ene-3,20-dione,<br>(8.alpha.,10.alpha.)-                                                        | 314,225                            |                  | 1,086     |           | Steroid                             |
| 34       | Ergosta-5,8,22-trien-3-ol,<br>(3.beta.,22E)-                                                            | 396,339                            |                  | 1,755     |           | Steroid                             |
| 35       | Campesterol                                                                                             | 400,371                            |                  | 4,017     | 1,78      | Steroid                             |
| 36       | 4,22-Stigmastadiene-3-one                                                                               | 410,355                            |                  | 1,19      |           | Steroid                             |
| 37       | Stigmasterol                                                                                            | 412,371                            |                  | 5,386     | 1,397     | Steroid                             |
| 38       | Stigmast-4-en-3-one                                                                                     | 412,371                            |                  | 1,362     |           | Steroid                             |
| 39       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                                                            | 414,386                            |                  | 5,201     | 1,675     | Steroid                             |
| 40       | Cholest-5-en-3-ol, 24-<br>propylidene-, (3.beta.)-                                                      | 426,386                            |                  | 0,692     |           | Steroid                             |
| 41       | Cholest-5-en-24-one, 3-<br>(acetyloxy)-, (3.beta.)-                                                     | 442,345                            |                  |           | 0,639     | Steroid                             |
| 42       | Squalene                                                                                                | 410,391                            |                  |           | 0,502     | Triterpenoid                        |
| 43       | 9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-<br>methylene-, (3.beta.)-                                                  | 440,402                            |                  |           | 3,693     | Triterpenoid                        |
| 44       | 9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol,<br>acetate, (3.beta.)-                                                     | 468,397                            |                  |           | 1,114     | Triterpenoid                        |

Bảng P2.2. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa HRO giai đoạn tuần 1, 3 và 5

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                           | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------|
|          |                                                                 |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                               |
| 1        | Ethanamine, 2,2'-oxybis[N,N-<br>dimethyl-                       | 160,158                            |                  |           | 0,878     | Aliphatic Amine               |
| 2        | Eicosane                                                        | 282,329                            |                  | 0,181     |           | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 3        | 1,4-Eicosadiene                                                 | 278,297                            | 2,205            | 0,167     |           | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 4        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of<br>4-trichloromethylbenzaldehyde | 401,969                            |                  |           | 2,495     | Benzaldehyde                  |
| 5        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                         | 108,094                            |                  |           | 3,4       | Cyclic<br>hydrocarbon         |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                        | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------|
|          |                                                                              |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                               |
| 6        | Bicyclo[10.1.0]tridec-1-ene                                                  | 178,172                            | 3,179            |           |           | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 7        | Phytol                                                                       | 296,308                            | 29,056           | 2,246     | 44,517    | Diterpenoid                   |
| 8        | 13-Docosenamide, (Z)-                                                        | 337,334                            |                  | 0,394     |           | Fatty acid amide              |
| 9        | 9,12,15-Octadecatrienoic acid,<br>methyl ester, (Z,Z,Z)-                     | 292,24                             |                  | 0,162     | 2,194     | Fatty acid ester              |
| 10       | Tetradecanenitrile                                                           | 209,214                            |                  |           | 2,164     | Fatty nitrile                 |
| 11       | 3-Cyclohexene-1-<br>carboxaldehyde, 4-methyl-                                | 124,089                            |                  | 0,331     |           | Monoterpenoid                 |
| 12       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-<br>trimethyl-                                  | 138,141                            |                  | 0,481     |           | Monoterpenoid                 |
| 13       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-<br>trimethyl-,<br>(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)- | 138,141                            | 2,634            |           |           | Monoterpenoid                 |
| 14       | Sulfurous acid, 2-ethylhexyl<br>tridecyl ester                               | 376,301                            | 3,065            | 0,181     |           | Organosulfate                 |
| 15       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-                                                   | 180,115                            |                  |           | 0,854     | Phenol                        |
| 16       | Phenol, 2,4-bis(1,1-<br>dimethylethyl)-                                      | 206,167                            | 2,407            | 0,205     |           | Phenol                        |
| 17       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                                  | 390,277                            | 51,1             |           | 39,397    | Phthalate ester               |
| 18       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid,<br>diisooctyl ester                            | 390,277                            |                  | 92,08     |           | Phthalate ester               |
| 19       | Ergosterol                                                                   | 396,339                            |                  | 0,274     |           | Steroid                       |
| 20       | Campesterol                                                                  | 400,371                            |                  | 0,592     | 1,263     | Steroid                       |
| 21       | Spinasterone                                                                 | 410,355                            |                  | 0,564     |           | Steroid                       |
| 22       | Stigmasterol                                                                 | 412,371                            |                  | 1,286     | 1,547     | Steroid                       |
| 23       | Stigmast-4-en-3-one                                                          | 412,371                            |                  | 0,288     |           | Steroid                       |
| 24       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                                 | 414,386                            | 6,354            | 0,568     | 1,29      | Steroid                       |

Bảng P2.3. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa TNG giai đoạn tuần 1, 3 và 5

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                       | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------|
|          |                                                                             |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                               |
| 1        | 3-Octene, (E)-                                                              | 112,125                            |                  | 22,583    |           | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 2        | 1-Pentanol, 5-<br>(methylenecyclopropyl)-                                   | 140,12                             |                  |           | 0,519     | Alkyl alcohol                 |
| 3        | 1,3,6,9b-Tetraazaphenalene-<br>4-carbonitrile, 7-bromo-2-<br>(bromomethyl)- | 364,891                            |                  |           | 0,593     | Carbonitrile                  |
| 4        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                                     | 108,094                            |                  |           | 1,927     | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 5        | Cyclododecane                                                               | 168,188                            |                  |           | 1,04      | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 6        | Phytol                                                                      | 296,308                            | 11,776           | 8,658     | 32,317    | Diterpenoid                   |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                      | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------|
|          |                                                                            |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                               |
| 7        | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol                                     | 296,308                            | 2,017            | 0,313     | 2,118     | Diterpenoid                   |
| 8        | 13-Docosenamide, (Z)-                                                      | 337,334                            |                  | 3,343     | 0,541     | Fatty acid amide              |
| 9        | 9-Octadecenamide, (Z)-                                                     | 281,272                            |                  | 0,588     |           | Fatty acid amide              |
| 10       | Methyl tetradecanoate                                                      | 242,225                            | 2,77             |           |           | Fatty acid ester              |
| 11       | Hexadecanoic acid, methyl ester                                            | 270,256                            | 7,09             | 0,546     |           | Fatty acid ester              |
| 12       | Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester                               | 270,256                            |                  |           | 0,738     | Fatty acid ester              |
| 13       | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-                      | 292,24                             |                  |           | 1,953     | Fatty acid ester              |
| 14       | 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester                                    | 294,256                            |                  | 0,764     |           | Fatty acid ester              |
| 15       | 10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester                                   | 294,256                            |                  |           | 0,735     | Fatty acid ester              |
| 16       | 9-Octadecenoic acid, methyl ester                                          | 296,272                            | 9,294            | 0,868     |           | Fatty acid ester              |
| 17       | Octadecanoic acid, methyl ester                                            | 298,287                            | 3,444            | 0,398     |           | Fatty acid ester              |
| 18       | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-                       | 306,256                            |                  | 0,389     |           | Fatty acid ester              |
| 19       | Tetradecanenitrile                                                         | 209,214                            |                  |           | 1,509     | Fatty nitrile                 |
| 20       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-carbonylthiocarbohydroximate    | 261,115                            |                  |           | 0,923     | Heterocyclic compound         |
| 21       | 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide                                    | 324,303                            |                  | 0,329     | 0,554     | Meroterpenoid                 |
| 22       | .gamma.-Tocopherol                                                         | 416,365                            |                  | 3,837     |           | Meroterpenoid                 |
| 23       | Vitamin E                                                                  | 430,381                            | 0,897            | 4,674     | 0,974     | Meroterpenoid                 |
| 24       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-      | 138,141                            | 1,91             | 0,846     | 0,595     | Monoterpenoid                 |
| 25       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]- | 138,141                            |                  | 30,895    |           | Monoterpenoid                 |
| 26       | Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-        | 578,171                            |                  | 0,335     |           | Organosiloxane                |
| 27       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-                                                 | 180,115                            | 7,251            |           | 0,785     | Phenol                        |
| 28       | 1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester                      | 390,277                            | 40,724           |           | 46,896    | Phthalate ester               |
| 29       | Androst-5,15-dien-3ol acetate                                              | 314,225                            |                  | 0,648     |           | Steroid                       |
| 30       | Cholest-4-en-3-one, 14-methyl-                                             | 398,355                            |                  | 0,335     |           | Steroid                       |
| 31       | Campesterol                                                                | 400,371                            |                  |           | 1,391     | Steroid                       |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                         | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------|
|          |                                                               |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                               |
| 32       | 5-Cholestene-3-ol, 24-methyl-                                 | 400,371                            |                  | 5,223     |           | Steroid                       |
| 33       | Spinasterone                                                  | 410,355                            |                  | 0,386     |           | Steroid                       |
| 34       | Stigmasterol                                                  | 412,371                            |                  | 7,983     | 1,908     | Steroid                       |
| 35       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, | 414,386                            | 12,828           | 6,061     | 1,321     | Steroid                       |
| 36       | 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-                         | 410,391                            |                  |           | 0,665     | Triterpenoid                  |

Bảng P2.4. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa NTH giai đoạn tuần 1, 3 và 5

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                 | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại<br>hoá<br>học/Bản<br>chất |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------------|
|          |                                                                       |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                                     |
| 1        | Decane, 3,8-dimethyl-                                                 | 170,203                            | 0,447            |           |           | Aliphatic hydrocarbon               |
| 2        | 7-Tetradecyne                                                         | 194,203                            |                  |           | 0,558     | Aliphatic hydrocarbon               |
| 3        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of 4-trichloromethylbenzaldehyde          | 401,969                            |                  |           | 0,714     | Benzaldehyde                        |
| 4        | Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy-             | 444,397                            |                  |           | 5,263     | Cyclic ether                        |
| 5        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                               | 108,094                            |                  |           | 2,895     | Cyclic hydrocarbon                  |
| 6        | Phytol                                                                | 296,308                            | 26,169           | 22,473    | 26,851    | Diterpenoid                         |
| 7        | 13-Docosenamide, (Z)-                                                 | 337,334                            |                  | 1,818     |           | Fatty acid amide                    |
| 8        | Methyl tetradecanoate                                                 | 242,225                            |                  |           | 0,623     | Fatty acid ester                    |
| 9        | Hexadecanoic acid, methyl ester                                       | 270,256                            | 17,003           |           | 1,873     | Fatty acid ester                    |
| 10       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester                        | 294,256                            | 0,641            |           | 0,658     | Fatty acid ester                    |
| 11       | 9-Octadecenoic acid, methyl ester                                     | 296,272                            | 0,967            |           | 2,573     | Fatty acid ester                    |
| 12       | 10-Octadecenoic acid, methyl ester                                    | 296,272                            |                  | 0,55      |           | Fatty acid ester                    |
| 13       | Octadecanoic acid, methyl ester                                       | 298,287                            | 0,443            |           | 1,045     | Fatty acid ester                    |
| 14       | Tetradecanenitrile                                                    | 209,214                            |                  |           | 1,515     | Fatty nitrile                       |
| 15       | .gamma.-Tocopherol                                                    | 416,365                            | 2,899            | 1,463     |           | Meroterpenoid                       |
| 16       | Vitamin E                                                             | 430,381                            | 1,338            | 5,503     | 1,394     | Meroterpenoid                       |
| 17       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)- | 138,141                            | 1,178            | 0,488     |           | Monoterpenoid                       |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được        | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |           |           | Phân loại<br>hoá<br>học/Bản<br>chất |
|----------|------------------------------|------------------------------------|------------------|-----------|-----------|-------------------------------------|
|          |                              |                                    | Tuần<br>1        | Tuần<br>3 | Tuần<br>5 |                                     |
| 18       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-   | 180,115                            |                  |           | 0,538     | Phenol                              |
| 19       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate  | 390,277                            | 48,915           | 47,731    | 50,216    | Phthalate<br>ester                  |
| 20       | Campesterol                  | 400,371                            |                  | 4,549     | 1,039     | Steroid                             |
| 21       | Stigmasterol                 | 412,371                            |                  | 8,664     | 1,357     | Steroid                             |
| 22       | Stigmasterol, 22,23-dihydro- | 414,386                            |                  | 6,759     | 0,889     | Steroid                             |

Bảng P2.5. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa HLA giai đoạn tuần 1, 3 và 5

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                   | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |        |        | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------|--------|-------------------------------|
|          |                                                                         |                                    | Tuần 1           | Tuần 3 | Tuần 5 |                               |
| 1        | Benzenamine, N-phenyl-                                                  | 169,089                            |                  |        | 0,669  | Aliphatic<br>Amine            |
| 2        | 3-Octene, (Z)-                                                          | 112,125                            |                  | 44,992 |        | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 3        | 8-Hexadecyne                                                            | 222,235                            |                  |        | 0,709  | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 4        | 7-Hexadecene, (Z)-                                                      | 224,25                             |                  |        | 0,805  | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 5        | 2,4-Dinitrophenyl<br>hydrazone of 4-<br>trichloromethylbenzaldehyd<br>e | 401,969                            |                  |        | 1,745  | Benzaldehyde                  |
| 6        | Trichloroacetic acid,<br>tetradecyl ester                               | 358,123                            |                  |        | 0,852  | Carboxylic<br>acid ester      |
| 7        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                                 | 108,094                            |                  |        | 4,617  | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 8        | Cyclohexadecane                                                         | 224,25                             |                  |        | 1,024  | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 9        | Phytol                                                                  | 296,308                            | 48,104           | 21,533 | 44,073 | Diterpenoid                   |
| 10       | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-<br>hexadecen-1-ol                              | 296,308                            | 0,683            |        |        | Diterpenoid                   |
| 11       | 13-Docosenamide, (Z)-                                                   | 337,334                            |                  | 1,66   | 0,771  | Fatty acid<br>amide           |
| 12       | 9-Octadecenamide, (Z)-                                                  | 281,272                            | 1,06             |        | 0,376  | Fatty acid<br>amide           |
| 13       | Hexadecanoic acid, methyl<br>ester                                      | 270,256                            | 1,178            |        |        | Fatty acid<br>ester           |
| 14       | 9,12,15-Octadecatrienoic<br>acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-                | 292,24                             | 1,747            |        | 1,525  | Fatty acid<br>ester           |
| 15       | cis,cis,cis-7,10,13-<br>Hexadecatrienal                                 | 234,198                            |                  |        | 0,397  | Fatty<br>aldehyde             |
| 16       | Tetradecanenitrile                                                      | 209,214                            |                  |        | 2,103  | Fatty nitrile                 |
| 17       | Octadecanenitrile                                                       | 265,277                            |                  |        | 0,42   | Fatty nitrile                 |
| 18       | S-[2-[N,N-<br>Dimethylamino]ethyl]morp<br>holine-N-                     | 261,115                            |                  |        | 0,494  | Heterocyclic<br>compound      |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                 | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |        |        | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------|--------|-------------------------------|
|          |                                                                       |                                    | Tuần 1           | Tuần 3 | Tuần 5 |                               |
|          | carbonylthiocarbohydroxim<br>ate                                      |                                    |                  |        |        |                               |
| 19       | 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide                               | 324,303                            |                  |        | 0,454  | Meroterpenoid                 |
| 20       | .gamma.-Tocopherol                                                    | 416,365                            |                  | 4,65   |        | Meroterpenoid                 |
| 21       | Vitamin E                                                             | 430,381                            | 1,498            | 7,526  |        | Meroterpenoid                 |
| 22       | Vitamin E                                                             | 430,381                            |                  |        | 1,99   | Meroterpenoid                 |
| 23       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)- | 138,141                            | 1,906            | 0,585  | 0,411  | Monoterpenoid                 |
| 24       | Benzene, 1-methyl-3-[(2-methylpropyl)thio]-                           | 180,097                            | 0,679            |        | 0,622  | Phenol                        |
| 25       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester                | 278,152                            |                  |        | 0.43   | Phthalate ester               |
| 26       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                           | 390,277                            | 32,282           |        | 31,385 | Phthalate ester               |
| 27       | Campesterol                                                           | 400,371                            |                  | 4,676  |        | Steroid                       |
| 28       | 5-Cholestene-3-ol, 24-methyl-                                         | 400,371                            |                  |        | 0,9    | Steroid                       |
| 29       | Stigmasterol                                                          | 412,371                            |                  | 7,928  | 1,394  | Steroid                       |
| 30       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                          | 414,386                            | 10,863           | 6,45   | 1,038  | Steroid                       |
| 31       | 1-{2-[3-Methyl-3-(5-methyl-furan-2-yl)-butyl]-oxiran-2-yl}-ethanone   | 236,141                            |                  |        | 0,418  | Terpene ketone                |
| 32       | Squalene                                                              | 410,391                            |                  |        | 0,38   | Triterpenoid                  |

Bảng P2.6. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa NTI giai đoạn tuần 1, 3 và 5

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                        | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |        |        | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------|--------|-------------------------------|
|          |                                                              |                                    | Tuần 1           | Tuần 3 | Tuần 5 |                               |
| 1        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of 4-trichloromethylbenzaldehyde | 401,969                            |                  |        | 2,031  | Benzaldehyde                  |
| 2        | 8-Oxabicyclo[5.1.0]oct-5-en-2-ol, 1,4,4-trimethyl-           | 168,115                            |                  |        | 1,502  | Cyclic ether                  |
| 3        | Cyclooctene, 3-ethenyl-                                      | 136,125                            |                  |        | 5,168  | Cyclic hydrocarbon            |
| 4        | Phytol                                                       | 296,308                            | 29,776           | 4,605  | 38,765 | Diterpenoid                   |
| 5        | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol                       | 296,308                            |                  | 21,075 |        | Diterpenoid                   |
| 6        | 13-Docosenamide, (Z)-                                        | 337,334                            |                  | 1,722  | 0,877  | Fatty acid amide              |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                   | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |        |        | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------|--------|-------------------------------|
|          |                                                                         |                                    | Tuần 1           | Tuần 3 | Tuần 5 |                               |
| 7        | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-                   | 292,24                             |                  |        | 2,927  | Fatty acid ester              |
| 8        | Tetradecanenitrile                                                      | 209,214                            |                  |        | 1,644  | Fatty nitrile                 |
| 9        | Octadecanenitrile                                                       | 265,277                            | 0,761            |        |        | Fatty nitrile                 |
| 10       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-carbonylthiocarbohydroximate | 261,115                            | 1,093            |        | 0,932  | Heterocyclic compound         |
| 11       | .gamma.-Tocopherol                                                      | 416,365                            |                  | 2,623  |        | Meroterpenoid                 |
| 12       | Vitamin E                                                               | 430,381                            | 2,767            | 3,197  | 2,53   | Meroterpenoid                 |
| 13       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-   | 138,141                            | 0,881            |        |        | Monoterpenoid                 |
| 14       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-                                              | 180,115                            | 0,945            |        |        | Phenol                        |
| 15       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                             | 390,277                            | 46,244           | 53,618 | 38,302 | Phthalate ester               |
| 16       | Campesterol                                                             | 400,371                            |                  | 3,407  |        | Steroid                       |
| 17       | 5-Cholestene-3-ol, 24-methyl-                                           | 400,371                            |                  |        | 1,507  | Steroid                       |
| 18       | Stigmasterol                                                            | 412,371                            | 7,122            | 5,273  |        | Steroid                       |
| 19       | Stigmasta-4,22-dien-3.beta.-ol                                          | 412,371                            |                  |        | 2,24   | Steroid                       |
| 20       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                            | 414,386                            | 10,411           | 3,874  | 1,574  | Steroid                       |
| 21       | Squalene                                                                | 410,391                            |                  | 0,606  |        | Triterpenoid                  |

Bảng P2.7. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa IR504 trong điều kiện che sáng và không che sáng

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                 | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                       |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 1        | 3-Octene, (E)-                                        | 112,125                            |                  | 39,867       | Alkene                        |
| 2        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                               | 108,094                            | 1,809            |              | Cyclic hydrocarbon            |
| 3        | Phytol                                                | 296,308                            | 24,925           |              | Diterpenoid                   |
| 4        | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                      | 280,24                             | 0,816            |              | Fatty acid                    |
| 5        | 6-Octadecenoic acid, (Z)-                             | 282,256                            | 1,107            |              | Fatty acid                    |
| 6        | 2-Chloroethyl linoleate                               | 342,233                            | 0,452            |              | Fatty acid                    |
| 7        | 9-Octadecenamide, (Z)-                                | 281,272                            | 0,631            | 3,181        | Fatty acid amide              |
| 8        | 7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester               | 266,225                            | 0,642            |              | Fatty acid ester              |
| 9        | Hexadecanoic acid, methyl ester                       | 270,256                            | 0,586            | 8,534        | Fatty acid ester              |
| 10       | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- | 292,24                             | 2,11             |              | Fatty acid ester              |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                                            | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                                                  |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 11       | 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester                                                          | 294,256                            |                  | 4,854        | Fatty acid ester              |
| 12       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester                                                   | 294,256                            | 1,778            |              | Fatty acid ester              |
| 13       | 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-                                                          | 296,272                            |                  | 11,607       | Fatty acid ester              |
| 14       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester                         | 354,277                            | 1,471            |              | Fatty acid ester              |
| 15       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester                         | 354,277                            | 0,647            |              | Fatty acid ester              |
| 16       | 9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-                                                             | 264,245                            | 0,922            |              | Fatty alcohol                 |
| 17       | 9-Octadecenal, (Z)-                                                                              | 266,261                            | 1,967            |              | Fatty aldehyde                |
| 18       | Tetradecanenitrile                                                                               | 209,214                            | 1,143            |              | Fatty nitrile                 |
| 19       | 1-Oxaspiro[4.5]decan-2-one, 6-isopropenyl-9-methyl-                                              | 208,146                            | 0,483            |              | Heterocyclic compound         |
| 20       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-carbonylthiocarbohydroximate                          | 261,115                            | 1,015            |              | Heterocyclic compound         |
| 21       | Vitamin E                                                                                        | 430,381                            | 2,489            |              | Meroterpenoid                 |
| 22       | Morphinan, 7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methyl-3,6-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, (5.alpha.,6.alpha.)- | 429,216                            |                  | 2,485        | Morphinan alkaloid            |
| 23       | Cyclononasiloxane, octadecamethyl-                                                               | 666,169                            |                  | 15,311       | Organosiloxane                |
| 24       | Benzene, 1-methyl-3-[(2-methylpropyl)thio]-                                                      | 180,097                            | 0,569            |              | Phenol                        |
| 25       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester                                         | 278,152                            |                  | 2,179        | Phthalate ester               |
| 26       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                                                      | 390,277                            | 43,163           |              | Phthalate ester               |
| 27       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester                                                   | 390,277                            | 0,472            |              | Phthalate ester               |
| 28       | Campesterol                                                                                      | 400,371                            | 1,78             |              | Steroid                       |
| 29       | Stigmasterol                                                                                     | 412,371                            | 1,397            |              | Steroid                       |
| 30       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                                                     | 414,386                            | 1,675            |              | Steroid                       |
| 31       | Cholest-5-en-24-one, 3-(acetyloxy)-, (3.beta.)-                                                  | 442,345                            | 0,639            |              | Steroid                       |
| 32       | 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-                                                              | 268,277                            |                  | 2,38         | Terpene ketone                |
| 33       | Squalene                                                                                         | 410,391                            | 0,502            | 9,602        | Triterpenoid                  |
| 34       | 9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-methylene-, (3.beta.)-                                               | 440,402                            | 3,693            |              | Triterpenoid                  |
| 35       | 9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-                                                 | 468,397                            | 1,114            |              | Triterpenoid                  |

Bảng P2.8. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa NTH trong điều kiện che sáng và không che sáng

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                        | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                              |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 1        | 7-Tetradecyne                                                | 194,203                            | 0,558            |              | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 2        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of 4-trichloromethylbenzaldehyde | 401,969                            | 0,714            |              | Benzaldehyde                  |
| 3        | Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy-    | 444,397                            | 5,263            |              | Cyclic ether                  |
| 4        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                      | 108,094                            | 2,895            |              | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 5        | Phytol                                                       | 296,308                            | 26,851           |              | Diterpenoid                   |
| 6        | n-Hexadecanoic acid                                          | 256,24                             |                  | 4,649        | Fatty Acid                    |
| 7        | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                             | 280,24                             |                  | 4,144        | Fatty Acid                    |
| 8        | Methyl tetradecanoate                                        | 242,225                            | 0,623            |              | Fatty acid ester              |
| 9        | Hexadecanoic acid, methyl ester                              | 270,256                            | 1,873            |              | Fatty acid ester              |
| 10       | Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester                 | 270,256                            |                  | 5,699        | Fatty acid ester              |
| 11       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester               | 294,256                            | 0,658            | 2,741        | Fatty acid ester              |
| 12       | 9-Octadecenoic acid, methyl ester                            | 296,272                            | 2,573            |              | Fatty acid ester              |
| 13       | 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                       | 296,272                            |                  | 6,386        | Fatty acid ester              |
| 14       | Octadecanoic acid, methyl ester                              | 298,287                            | 1,045            |              | Fatty acid ester              |
| 15       | 2-Butenedioic acid (E)-, bis(2-ethylhexyl) ester             | 340,261                            |                  | 10,229       | Fatty acid ester              |
| 16       | 9,17-Octadecadienal, (Z)-                                    | 264,245                            |                  | 4,178        | Fatty aldehyde                |
| 17       | Tetradecanenitrile                                           | 209,214                            | 1,515            |              | Fatty nitrile                 |
| 18       | Vitamin E                                                    | 430,381                            | 1,394            |              | Meroterpenoid                 |
| 19       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-                                   | 180,115                            | 0,538            |              | Phenol                        |
| 20       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                  | 390,277                            | 50,216           |              | Phthalate ester               |
| 21       | 1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester    | 396,324                            |                  | 43,957       | Phthalate ester<br>derivative |
| 22       | Campesterol                                                  | 400,371                            | 1,039            |              | Steroid                       |
| 23       | Stigmasterol                                                 | 412,371                            | 1,357            |              | Steroid                       |
| 24       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                 | 414,386                            | 0,889            |              | Steroid                       |
| 25       | Squalene                                                     | 410,391                            |                  | 18,018       | Triterpenoid                  |

Bảng P2.9. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa TNG trong điều kiện che sáng và không che sáng

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được               | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                     |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 1        | 3-Octene, (Z)-                      | 112,125                            |                  | 29,137       | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 2        | 1-Pentanol, (methylenecyclopropyl)- | 5-<br>140,12                       | 0,519            |              | Alkyl alcohol                 |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                   | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                         |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 3        | Benzaldehyde, 4-propyl-                                                 | 148,089                            |                  | 4,074        | Benzaldehyde                  |
| 4        | 1,3,6,9b-Tetraazaphenalene-4-carbonitrile, 7-bromo-2-(bromomethyl)-     | 364,891                            | 0,593            |              | Carbonitrile                  |
| 5        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                                 | 108,094                            | 1,927            |              | Cyclic hydrocarbon            |
| 6        | Cyclododecane                                                           | 168,188                            | 1,04             |              | Cyclic hydrocarbon            |
| 7        | Phytol                                                                  | 296,308                            | 32,317           |              | Diterpenoid                   |
| 8        | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol                                  | 296,308                            | 2,118            |              | Diterpenoid                   |
| 9        | 13-Docosenamide, (Z)-                                                   | 337,334                            | 0,541            |              | Fatty acid amide              |
| 10       | Decanoic acid, ethyl ester                                              | 200,178                            |                  | 1,478        | Fatty acid ester              |
| 11       | Dodecanoic acid, ethyl ester                                            | 228,209                            |                  | 8,331        | Fatty acid ester              |
| 12       | Tetradecanoic acid, ethyl ester                                         | 256,24                             |                  | 3,554        | Fatty acid ester              |
| 13       | Hexadecanoic acid, methyl ester                                         | 270,256                            |                  | 4,885        | Fatty acid ester              |
| 14       | Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester                            | 270,256                            | 0,738            |              | Fatty acid ester              |
| 15       | Hexadecanoic acid, ethyl ester                                          | 284,272                            |                  | 14,524       | Fatty acid ester              |
| 16       | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-                   | 292,24                             | 1,953            |              | Fatty acid ester              |
| 17       | 10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester                                | 294,256                            | 0,735            |              | Fatty acid ester              |
| 18       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester                          | 294,256                            |                  | 2,882        | Fatty acid ester              |
| 19       | 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                                  | 296,272                            |                  | 6,235        | Fatty acid ester              |
| 20       | Ethyl Oleate                                                            | 310,287                            |                  | 2,929        | Fatty acid ester              |
| 21       | Octadecanoic acid, ethyl ester                                          | 312,303                            |                  | 8,066        | Fatty acid ester              |
| 22       | Octadecanal                                                             | 268,277                            |                  | 1,817        | Fatty aldehyde                |
| 23       | Tetradecanenitrile                                                      | 209,214                            | 1,509            |              | Fatty nitrile                 |
| 24       | 9-Octadecenamide, (Z)-                                                  | 281,272                            |                  | 3,514        | Fatty acid amide              |
| 25       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-carbonylthiocarbohydroximate | 261,115                            | 0,923            |              | Heterocyclic compound         |
| 26       | 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide                                 | 324,303                            | 0,554            |              | Meroterpenoid                 |
| 27       | Vitamin E                                                               | 430,381                            | 0,974            |              | Meroterpenoid                 |
| 28       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-   | 138,141                            | 0,595            |              | Monoterpenoid                 |
| 29       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-                                              | 180,115                            | 0,785            |              | Phenol                        |
| 30       | 1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester                   | 390,277                            | 46,896           |              | Phthalate ester               |
| 31       | Campesterol                                                             | 400,371                            | 1,391            |              | Steroid                       |
| 32       | Stigmasterol                                                            | 412,371                            | 1,908            |              | Steroid                       |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                      | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                            |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 33       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                               | 414,386                            | 1,321            |              | Steroid                       |
| 34       | 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-                                        | 268,277                            |                  | 1,946        | Terpene ketone                |
| 35       | 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene,<br>2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)- | 410,391                            | 0,665            |              | Triterpenoid                  |
| 36       | Squalene                                                                   | 410,391                            |                  | 6,628        | Triterpenoid                  |

Bảng P2.10. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa HLA trong điều kiện che sáng và không che sáng

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                       | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                             |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 1        | Benzenamine, N-phenyl-                                                      | 169,089                            | 0,669            |              | Aliphatic<br>Amine            |
| 2        | 8-Hexadecyne                                                                | 222,235                            | 0,709            |              | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 3        | 7-Hexadecene, (Z)-                                                          | 224,25                             | 0,805            |              | Aliphatic<br>hydrocarbon      |
| 4        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of 4-<br>trichloromethylbenzaldehyde            | 401,969                            | 1,745            |              | Benzaldehyde                  |
| 5        | Trichloroacetic acid, tetradecyl ester                                      | 358,123                            | 0,852            |              | Carboxylic<br>acid ester      |
| 6        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                                     | 108,094                            | 4,617            |              | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 7        | Cyclohexadecane                                                             | 224,25                             | 1,024            |              | Cyclic<br>hydrocarbon         |
| 8        | Phytol                                                                      | 296,308                            | 44,073           |              | Diterpenoid                   |
| 9        | 13-Docosenamide, (Z)-                                                       | 337,334                            | 0,771            |              | Fatty acid<br>amide           |
| 10       | Pentadecanoic acid, 14-methyl-,<br>methyl ester                             | 270,256                            |                  | 2,383        | Fatty acid ester              |
| 11       | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl<br>ester, (Z,Z,Z)-                    | 292,24                             | 1,525            |              | Fatty acid ester              |
| 12       | 11-Octadecenoic acid, methyl ester,<br>(Z)-                                 | 296,272                            |                  | 2,949        | Fatty acid ester              |
| 13       | 2-Butenedioic acid (E)-, bis(2-<br>ethylhexyl) ester                        | 340,261                            |                  | 11,892       | Fatty acid ester              |
| 14       | cis,cis,cis-7,10,13-Hexadecatrienal                                         | 234,198                            | 0,397            |              | Fatty aldehyde                |
| 15       | Tetradecanenitrile                                                          | 209,214                            | 2,103            |              | Fatty nitrile                 |
| 16       | Octadecanenitrile                                                           | 265,277                            | 0,42             |              | Fatty nitrile                 |
| 17       | 9-Octadecenamide, (Z)-                                                      | 281,272                            | 0,376            |              | Fatty acid<br>amide           |
| 18       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-<br>carbonylthiocarbohydroximate | 261,115                            | 0,494            |              | Heterocyclic<br>compound      |
| 19       | 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-<br>olide                                 | 324,303                            | 0,454            |              | Meroterpenoid                 |
| 20       | Vitamin E                                                                   | 430,381                            | 1,99             |              | Meroterpenoid                 |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                   | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                         |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 21       | Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-   | 138,141                            | 0,411            |              | Monoterpenoid                 |
| 22       | Benzene, 1-methyl-3-[(2-methylpropyl)thio]-                             | 180,097                            | 0,622            |              | Phenol                        |
| 23       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester                  | 278,152                            | 0,43             |              | Phthalate ester               |
| 24       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                             | 390,277                            | 31,385           |              | Phthalate ester               |
| 25       | 1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester               | 396,324                            |                  | 46,997       | Phthalate ester derivative    |
| 26       | 5-Cholestene-3-ol, 24-methyl-                                           | 400,371                            | 0,9              |              | Steroid                       |
| 27       | Stigmasterol                                                            | 412,371                            | 1,394            |              | Steroid                       |
| 28       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                            | 414,386                            | 1,038            |              | Steroid                       |
| 29       | 1-{2-[3-Methyl-3-(5-methyl-furan-2-yl)-butyl]-oxiran-2-yl}-ethanone     | 236,141                            | 0,418            |              | Terpene ketone                |
| 30       | Squalene                                                                | 410,391                            | 0,38             |              | Triterpenoid                  |
| 31       | 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)- | 410,391                            |                  | 35,779       | Triterpenoid                  |

Bảng P2.11. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa NTI trong điều kiện che sáng và không che sáng

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                        | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                              |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 1        | 3-Octene, (Z)-                                               | 112,125                            |                  | 19,166       | Aliphatic hydrocarbon         |
| 2        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of 4-trichloromethylbenzaldehyde | 401,969                            | 2,031            |              | Benzaldehyde                  |
| 3        | 8-Oxabicyclo[5.1.0]oct-5-en-2-ol, 1,4,4-trimethyl-           | 168,115                            | 1,502            |              | Cyclic ether                  |
| 4        | Cyclooctene, 3-ethenyl-                                      | 136,125                            | 5,168            |              | Cyclic hydrocarbon            |
| 5        | Phytol                                                       | 296,308                            | 38,765           |              | Diterpenoid                   |
| 6        | 13-Docosenamide, (Z)-                                        | 337,334                            | 0,877            |              | Fatty acid amide              |
| 7        | Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester                 | 270,256                            |                  | 20,52        | Fatty acid ester              |
| 8        | Hexadecanoic acid, ethyl ester                               | 284,272                            |                  | 1,99         | Fatty acid ester              |
| 9        | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-        | 292,24                             | 2,927            |              | Fatty acid ester              |
| 10       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester               | 294,256                            |                  | 11,4         | Fatty acid ester              |
| 11       | 8-Octadecenoic acid, methyl ester                            | 296,272                            |                  | 32,11        | Fatty acid ester              |
| 12       | 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                       | 296,272                            |                  | 1,802        | Fatty acid ester              |
| 13       | Octadecanoic acid, methyl ester                              | 298,287                            |                  | 5,903        | Fatty acid ester              |
| 14       | Ethyl Oleate                                                 | 310,287                            |                  | 2            | Fatty acid ester              |
| 15       | Tetradecanenitrile                                           | 209,214                            | 1,644            |              | Fatty nitrile                 |

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                   | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                         |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 16       | S-[2-[N,N-Dimethylamino]ethyl]morpholine-N-carbonylthiocarbohydroximate | 261,115                            | 0,932            |              | Heterocyclic compound         |
| 17       | Vitamin E                                                               | 430,381                            | 2,53             |              | Meroterpenoid                 |
| 18       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                             | 390,277                            | 38,302           |              | Phthalate ester               |
| 19       | 5-Cholestene-3-ol, 24-methyl-                                           | 400,371                            | 1,507            |              | Steroid                       |
| 20       | Stigmasta-4,22-dien-3.beta.-ol                                          | 412,371                            | 2,24             |              | Steroid                       |
| 21       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                            | 414,386                            | 1,574            |              | Steroid                       |
| 22       | Squalene                                                                | 410,391                            |                  | 5,109        | Triterpenoid                  |

Bảng P2.12. Kết quả phân tích GC-MS của giống lúa Huyết Rồng trong điều kiện che sáng và không che sáng

| Số<br>tt | Tên hợp chất thu được                                                 | Trọng<br>lượng<br>phân tử<br>(amu) | % diện tích peak |              | Phân loại hoá<br>học/Bản chất |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------|--------------|-------------------------------|
|          |                                                                       |                                    | Không<br>che     | Che 2<br>lớp |                               |
| 1        | Ethanamine, 2,2'-oxybis[N,N-dimethyl-                                 | 160,158                            | 0,878            |              | Aliphatic Amine               |
| 2        | 1-Hexene, 4-ethyl-                                                    | 112,125                            |                  | 13,521       | Aliphatic hydrocarbon         |
| 3        | 2,4-Dinitrophenyl hydrazone of 4-trichloromethylbenzaldehyde          | 401,969                            | 2,495            |              | Benzaldehyde                  |
| 4        | Bicyclo[5.1.0]oct-3-ene                                               | 108,094                            | 3,4              |              | Cyclic hydrocarbon            |
| 5        | Phytol                                                                | 296,308                            | 44,517           |              | Diterpenoid                   |
| 6        | Hexadecanoic acid, methyl ester                                       | 270,256                            |                  | 5,705        | Fatty acid ester              |
| 7        | Propanedioic acid, 1,3-dithiolan-2-ylidene-, bis(1-methylethyl) ester | 290,065                            |                  | 3,611        | Fatty acid ester              |
| 8        | 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-                 | 292,24                             | 2,194            |              | Fatty acid ester              |
| 9        | 9-Octadecenoic acid, methyl ester                                     | 296,272                            |                  | 6,112        | Fatty acid ester              |
| 10       | Tetradecanenitrile                                                    | 209,214                            | 2,164            |              | Fatty nitrile                 |
| 11       | 9-Octadecenamide, (Z)-                                                | 281,272                            |                  | 2,941        | Fatty acid amide              |
| 12       | Cyclononasiloxane, octadecamethyl-                                    | 666,169                            |                  | 2,93         | Organosiloxane                |
| 13       | 1,3-Benzenediol, 5-pentyl-                                            | 180,115                            | 0,854            |              | Phenol                        |
| 14       | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                           | 390,277                            | 39,397           |              | Phthalate ester               |
| 15       | 1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester             | 396,324                            |                  | 57,411       | Phthalate ester derivative    |
| 16       | Campesterol                                                           | 400,371                            | 1,263            |              | Steroid                       |
| 17       | Stigmasterol                                                          | 412,371                            | 1,547            |              | Steroid                       |
| 18       | Stigmasterol, 22,23-dihydro-                                          | 414,386                            | 1,29             |              | Steroid                       |
| 19       | Squalene                                                              | 410,391                            |                  | 7,77         | Triterpenoid                  |

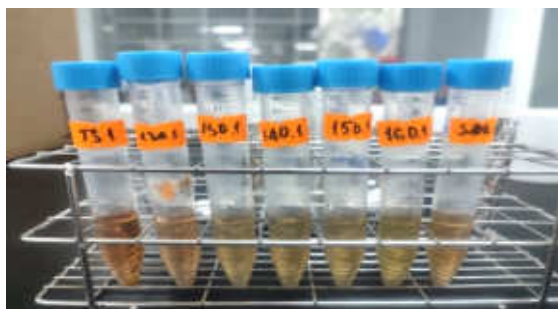
## 2.2. Các hình ảnh và số liệu về quá trình chế biến bột lá lúa



Hình P2.15. Dịch chiết lúa non ở các nồng độ ethanol



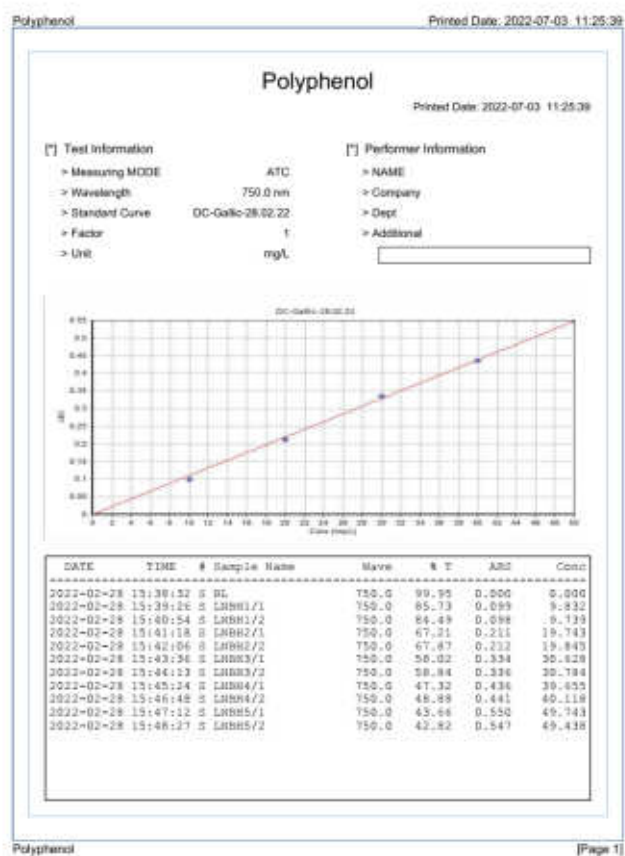
Hình P2.16. Cô quay đuổi ethanol trong mẫu dịch chiết



Hình P2.17. Phân tích hàm lượng flavonoid tổng

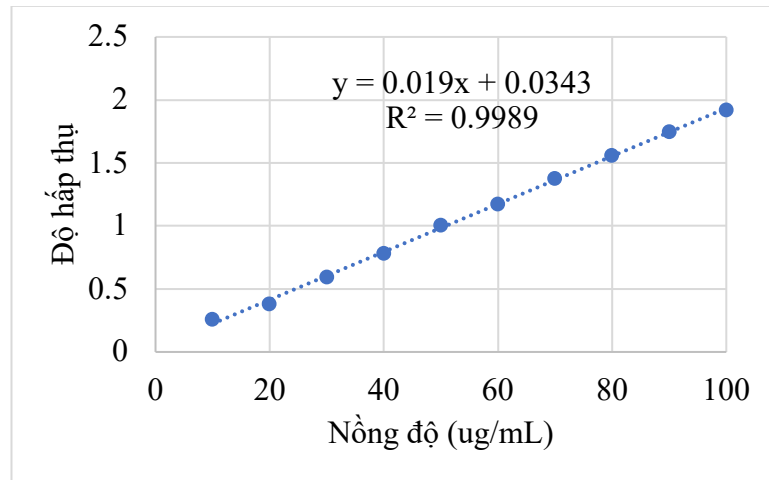


Hình P2.18. Dịch lá lúa trước khi sấy



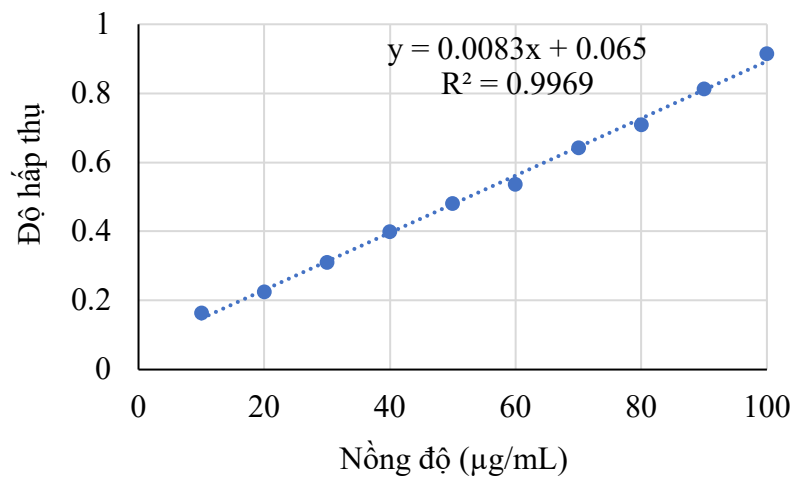
Hình P2.19. Đường chuẩn gallic acid

## Định lượng Flavonoids tổng



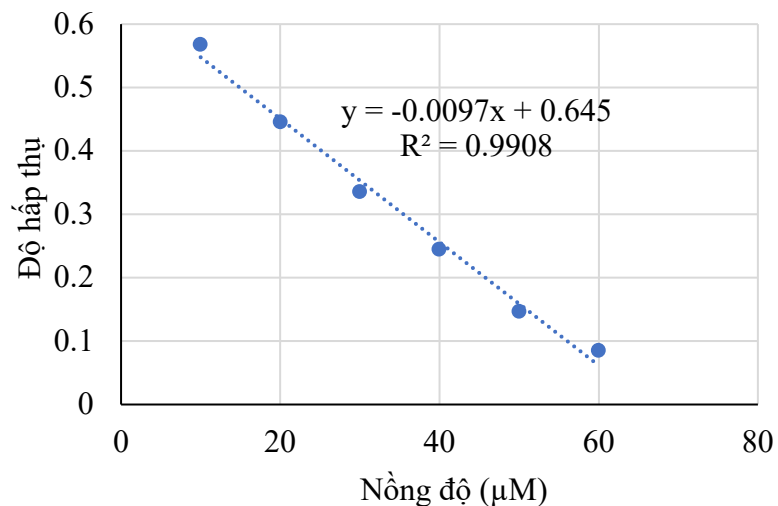
Hình P2.20. Đường chuẩn Quercetin

## Định lượng polyphenol tổng

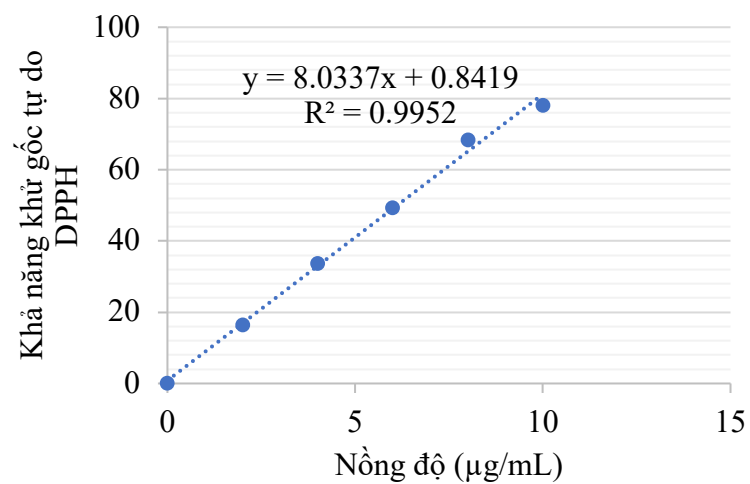


Hình P2.21. Phương trình đường chuẩn gallic acid định lượng polyphenol

## Phân tích hoạt tính DPPH



Hình P2.22 Phương trình đường chuẩn Trolox phân tích hoạt tính DPPH



Hình P2.23. Phương trình đường chuẩn ascorbic acid trong thử nghiệm DPPH



Hình P2.24. Bột lá lúa non (2kg)

### 2.3. Đánh giá tác động của bột lá lúa lên hệ vi sinh vật đường ruột ở chuột

Bảng P2.13. Mật số vi khuẩn LAB và AeB theo đơn vị CFU/mL

| Nhóm  | VK lactic (CFU/mL) $\pm$ SD             | VK hiếu khí (CFU/mL) $\pm$ SD           |
|-------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| PCDC  | $2.47 \times 10^6 \pm 1.65 \times 10^5$ | $2.15 \times 10^7 \pm 2.05 \times 10^6$ |
| PC150 | $2.38 \times 10^8 \pm 1.06 \times 10^7$ | $2.94 \times 10^8 \pm 9.40 \times 10^6$ |
| PC300 | $2.84 \times 10^7 \pm 9.49 \times 10^5$ | $2.38 \times 10^8 \pm 1.06 \times 10^7$ |

Bảng P2.14. Sự giống nhau và khác nhau về mức độ biểu hiện trong 20 con đường chuyển hóa (KEGG Metacyc) cao nhất giữa nhóm đối chứng và nhóm BLL

| Mã số                                            | Con đường trao đổi chất                                 | Phân loại                                                |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Con đường chung (PCDC, PC150 &amp; PC300)</b> |                                                         |                                                          |
| PWY-7663                                         | Tổng hợp gondoate (kỵ khí)                              | Tổng hợp lipid và acid béo (Chuyển hoá lipid)            |
| PWY-5667                                         | Tổng hợp CDP-diacylglycerol I                           | Tổng hợp lipid và acid béo (Chuyển hoá lipid)            |
| PWY0-1319                                        | Tổng hợp CDP-diacylglycerol II                          | Tổng hợp lipid và acid béo (Chuyển hoá lipid)            |
| PWY-5973                                         | Tổng hợp cis-vaccenate                                  | Tổng hợp lipid và acid béo (Chuyển hoá lipid)            |
| PWY-7111                                         | Lên men pyruvate thành isobutanol (biến đổi)            | Tổng hợp hợp chất thứ cấp                                |
| NONOXIPEN<br>T-PWY                               | Con đường pentose phosphate (nhánh không oxy hóa)       | Chuyển hoá carbohydrate và năng lượng                    |
| GLYCOLYSIS                                       | Đường phân I (từ glucose 6-phosphate)                   | Đường phân/Tân tạo glucose mới (Chuyển hóa carbohydrate) |
| CALVIN-PWY                                       | Chu trình Calvin-Benson-Bassham                         | Tổng hợp đường (Chuyển hóa carbohydrate)                 |
| ANAGLYCOLYSIS-PWY                                | Đường phân III (từ glucose)                             | Đường phân/Tân tạo glucose mới (Chuyển hóa carbohydrate) |
| PWY-7229                                         | Siêu con đường tổng hợp de novo nucleotide adenosine I  | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| PWY-7219                                         | Tổng hợp de novo adenosine ribonucleotide               | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| PWY-7208                                         | Siêu con đường tái chế pyrimidine nucleobase            | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| PWY-6126                                         | Siêu con đường tổng hợp de novo nucleotide adenosine II | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |

| <b>Mã số</b>                                    | <b>Con đường trao đổi chất</b>                          | <b>Phân loại</b>                                         |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| PWY-5101                                        | Tổng hợp L-isoleucine II                                | Tổng hợp amino acid (chuyển hoá protein)                 |
| <b>Con đường biểu hiện tăng cường ở PC150</b>   |                                                         |                                                          |
| PWY-621                                         | Phân giải sucrose III (sucrose invertase)               | Phân giải carbohydrate (Chuyển hóa carbohydrate)         |
| PWY-5484                                        | Đường phân II (từ fructose 6-phosphate)                 | Đường phân/Tân tạo glucose mới (Chuyển hóa carbohydrate) |
| ANAEROFRU<br>CAT-PWY                            | Lên men lactic đồng hình                                | Chuyển hoá carbohydrate và năng lượng                    |
| PWY-3781                                        | Hô hấp hiếu khí I (cytochrome c)                        | Chuyển hoá carbohydrate và năng lượng                    |
| PHOSLIPSYN<br>-PWY                              | Siêu con đường tổng hợp phospholipid I (vi khuẩn)       | Chuyển hoá lipid                                         |
| FASYN-<br>ELONG-PWY                             | Kéo dài acid béo – bão hòa                              | Chuyển hoá lipid                                         |
| <b>Con đường biểu hiện tăng cường ở PC300</b>   |                                                         |                                                          |
| PWY-5104                                        | Tổng hợp L-isoleucine IV                                | Tổng hợp amino acid (chuyển hoá protein)                 |
| ILEUSYN-<br>PWY                                 | Tổng hợp L-isoleucine I (từ threonine)                  | Tổng hợp amino acid (chuyển hoá protein)                 |
| VALSYN-<br>PWY                                  | Tổng hợp L-valine                                       | Tổng hợp amino acid (chuyển hoá protein)                 |
| BRANCHED-<br>CHAIN-AA-<br>SYN-PWY               | Siêu con đường tổng hợp amino acid chuỗi nhánh          | Tổng hợp amino acid (chuyển hoá protein)                 |
| <b>Con đường biểu hiện tăng cường ở PCDC</b>    |                                                         |                                                          |
| PWY-5686                                        | Tổng hợp UMP                                            | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| PWY-6122                                        | Tổng hợp 5-aminoimidazole ribonucleotide II             | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| PWY-6277                                        | Siêu con đường tổng hợp 5-aminoimidazole ribonucleotide | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| PWY-6121                                        | Tổng hợp 5-aminoimidazole ribonucleotide I              | Tổng hợp nucleoside và nucleotide                        |
| <b>Con đường trao đổi chung (PC300 và PCDC)</b> |                                                         |                                                          |

| Mã số    | Con đường trao đổi chất                           | Phân loại                         |
|----------|---------------------------------------------------|-----------------------------------|
| PWY-7220 | Tổng hợp de novo adenosine deoxyribonucleotide II | Tổng hợp nucleoside và nucleotide |
| PWY-7222 | Tổng hợp de novo guanosine deoxyribonucleotide II | Tổng hợp nucleoside và nucleotide |

Bảng P2.15. Hồ sơ dự đoán chức năng liên quan đến quá trình oxy hóa lipid và phân hủy acid béo

| Mã số      | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                                                                                         | Độ phong phú (%) |        |         |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|---------|
|            |                                                                                                                                                           | PC150            | PC300  | PCDC    |
| K00232     | E1.3.3.6, ACOX1, ACOX3; acyl-CoA oxidase [EC:1.3.3.6]                                                                                                     | 225,33           | 0      | 3       |
| K00249     | ACADM, acd; acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.8.7]                                                                                                           | 2815,39          | 286    | 263     |
| K00255     | ACADL; long-chain-acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.8.8]                                                                                                     | 2038,84          | 0      | 10      |
| EC:1.3.8.7 | Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase                                                                                                                       | 2815,39          | 286    | 263     |
| K01782     | fadJ; 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase / enoyl-CoA hydratase / 3-hydroxybutyryl-CoA epimerase [EC:1.1.1.35 4.2.1.17 5.1.2.3]                               | 6127,47          | 570,33 | 119,86  |
| K01825     | fadB; 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase / enoyl-CoA hydratase / 3-hydroxybutyryl-CoA epimerase / enoyl-CoA isomerase [EC:1.1.1.35 4.2.1.17 5.1.2.3 5.3.3.8] | 6228,47          | 570,33 | 88,86   |
| K06445     | fadE; acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.-]                                                                                                                | 6162,47          | 570,33 | 160,86  |
| K06446     | DCAA; acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.-]                                                                                                                | 537              | 447,5  | 259     |
| K07516     | fadN; 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase [EC:1.1.1.35]                                                                                                       | 3120,19          | 934,5  | 1038,75 |
| K09456     | aidB; putative acyl-CoA dehydrogenase                                                                                                                     | 5489,97          | 577,83 | 134,86  |

| Mã số           | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG) | Độ phong phú (%) |         |         |
|-----------------|-----------------------------------|------------------|---------|---------|
|                 |                                   | PC150            | PC300   | PCDC    |
| EC:1.1.1.3<br>5 | 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase   | 15602,13         | 2466,16 | 1698,47 |

Bảng P2.16. Hồ sơ dự đoán chức năng liên quan đến sự phân hủy glycogen và sự phân hủy lipid

| Mã số        | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                                        | Độ phong phú (%) |         |         |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|---------|
|              |                                                                                                          | PC150            | PC300   | PCDC    |
| K00627       | DLAT, aceF, pdhC; pyruvate dehydrogenase E2 component (dihydrolipoamide acetyltransferase) [EC:2.3.1.12] | 16103,94         | 6678,5  | 7962,52 |
| K00638       | catB; chloramphenicol O-acetyltransferase type B [EC:2.3.1.28]                                           | 990,16           | 69      | 374     |
| K00641       | metX; homoserine O-acetyltransferase/O-succinyltransferase [EC:2.3.1.31 2.3.1.46]                        | 4968,6           | 757,67  | 4773,91 |
| K00663       | aacA; aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase [EC:2.3.1.82]                                                | 67               | 0       | 0       |
| K00675       | nhoA; N-hydroxyarylamine O-acetyltransferase [EC:2.3.1.118]                                              | 4563,8           | 674,33  | 136,86  |
| K00680       | ytmI; uncharacterized N-acetyltransferase [EC:2.3.1.-]                                                   | 9796,01          | 8142,75 | 9724,42 |
| EC:2.3.1.178 | Diaminobutyrate acetyltransferase                                                                        | 259,83           | 0       | 10      |
| K04844       | ycjT; hypothetical glycosyl hydrolase [EC:3.2.1.-]                                                       | 4281,63          | 2642,62 | 2075,88 |
| K03928       | yvaK; carboxylesterase [EC:3.1.1.1]                                                                      | 7053,54          | 4448,5  | 3584    |
| K06999       | K06999; phospholipase/carboxylesterase                                                                   | 11549,12         | 1143,66 | 722,86  |

Bảng P2.17. Hồ sơ dự đoán chức năng liên quan đến sự phân hủy lipid

| Mã số            | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                            | Độ phong phú (%) |          |          |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------|----------|
|                  |                                                                              | PC150            | PC300    | PCDC     |
| K00005           | gldA; glycerol dehydrogenase<br>[EC:1.1.1.6]                                 | 12524,09         | 11846,98 | 12168,57 |
| GOLPDL<br>AT-PWY | superpathway of glycerol<br>degradation to 1,3-propanediol                   | 1657,18          | 2,4      | 124,55   |
| K00112           | glpB; glycerol-3-phosphate<br>dehydrogenase subunit B<br>[EC:1.1.5.3]        | 5039,16          | 4268,5   | 3713,65  |
| K00113           | glpC; glycerol-3-phosphate<br>dehydrogenase subunit C<br>[EC:1.1.5.3]        | 5061,16          | 4323,5   | 3713,65  |
| EC:1.1.1.94      | Glycerol-3-phosphate<br>dehydrogenase (NAD(P)(+))                            | 21176,49         | 26193,7  | 46971,1  |
| EC:1.1.3.21      | Glycerol-3-phosphate oxidase                                                 | 1077,5           | 46       | 61       |
| PWY-7003         | glycerol degradation to butanol                                              | 8894,81          | 4770,74  | 3191,93  |
| K00631           | plsB; glycerol-3-phosphate O-<br>acyltransferase [EC:2.3.1.15]               | 6976,47          | 571,5    | 149,52   |
| K00635           | E2.3.1.20; diacylglycerol O-<br>acyltransferase [EC:2.3.1.20]                | 1106,17          | 0        | 9        |
| K00712           | tagE; poly(glycerol-phosphate)<br>alpha-glucosyltransferase<br>[EC:2.4.1.52] | 5776,36          | 246,25   | 610      |
| K00980           | tagD; glycerol-3-phosphate<br>cytidyltransferase<br>[EC:2.7.7.39]            | 5785,05          | 4231,25  | 2818,75  |
| K01046           | lip, TGL2; triacylglycerol lipase<br>[EC:3.1.1.3]                            | 3243,82          | 993,75   | 1762,67  |
| EC:2.3.1.20      | Diacylglycerol O-acyltransferase                                             | 1524,02          | 10       | 11,75    |
| K01521           | cdh; CDP-diacylglycerol<br>pyrophosphatase [EC:3.6.1.26]                     | 4482,3           | 570,33   | 52,86    |
| EC:2.7.1.10<br>7 | Diacylglycerol kinase (ATP)                                                  | 18919,08         | 15125,7  | 18606,55 |
| EC:2.7.7.39      | Glycerol-3-phosphate<br>cytidyltransferase                                   | 5785,05          | 4231,25  | 2818,75  |

| Mã số       | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                                                  | Độ phong phú (%) |         |         |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|---------|
|             |                                                                                                                    | PC150            | PC300   | PCDC    |
| EC:2.7.8.20 | Phosphatidylglycerol--<br>membrane-oligosaccharide<br>glycerophosphotransferase                                    | 15639,83         | 6382,48 | 2269,66 |
| EC:3.1.1.3  | Triacylglycerol lipase                                                                                             | 3243,82          | 993,75  | 1762,67 |
| EC:3.1.3.81 | Diacylglycerol diphosphate<br>phosphatase                                                                          | 5864,97          | 571,5   | 149,52  |
| EC:3.6.1.26 | CDP-diacylglycerol<br>diphosphatase                                                                                | 4482,3           | 570,33  | 52,86   |
| EC:4.2.1.30 | Glycerol dehydratase                                                                                               | 1039,02          | 0       | 66      |
| K05813      | ugpB; sn-glycerol 3-phosphate<br>transport system substrate-<br>binding protein                                    | 5489,36          | 2669,14 | 2486,87 |
| K05814      | ugpA; sn-glycerol 3-phosphate<br>transport system permease<br>protein                                              | 5476,36          | 3613,14 | 4249,87 |
| K05815      | ugpE; sn-glycerol 3-phosphate<br>transport system permease<br>protein                                              | 5476,36          | 3148,64 | 3435,87 |
| K05816      | ugpC; sn-glycerol 3-phosphate<br>transport system ATP-binding<br>protein [EC:3.6.3.20]                             | 4797,2           | 1054,83 | 300,86  |
| K06120      | dhaB; glycerol dehydratase large<br>subunit [EC:4.2.1.30]                                                          | 346,34           | 0       | 33      |
| K06121      | dhbC; glycerol dehydratase<br>medium subunit [EC:4.2.1.30]                                                         | 346,34           | 0       | 33      |
| K06122      | dhbE; glycerol dehydratase small<br>subunit [EC:4.2.1.30]                                                          | 346,34           | 0       | 0       |
| K07029      | dagK; diacylglycerol kinase<br>(ATP) [EC:2.7.1.107]                                                                | 9205,86          | 4513,25 | 858     |
| K13498      | trpCF; indole-3-glycerol<br>phosphate synthase /<br>phosphoribosylanthranilate<br>isomerase [EC:4.1.1.48 5.3.1.24] | 5478,71          | 984,5   | 852,27  |

Bảng P2.18. Hồ sơ dự đoán chức năng liên quan đến sự tổng hợp acid béo và lipid

| Mã số       | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                            | Độ phong phú (%) |          |          |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------|----------|
|             |                                                                                              | PC150            | PC300    | PCDC     |
| PWY0-1319   | CDP-diacylglycerol biosynthesis II                                                           | 28125,37         | 31930,83 | 53876,32 |
| PWY4FS-7    | phosphatidylglycerol biosynthesis I (plastidic)                                              | 23408            | 27992,1  | 42857,27 |
| PWY4FS-8    | phosphatidylglycerol biosynthesis II (non-plastidic)                                         | 23408            | 27992,1  | 42857,27 |
| K00864      | glpK, GK; glycerol kinase [EC:2.7.1.30]                                                      | 19294,91         | 26067,71 | 37172,73 |
| K00901      | dgkA, DGK; diacylglycerol kinase (ATP) [EC:2.7.1.107]                                        | 9675,22          | 10443,45 | 16960,55 |
| K00995      | pgsA, PGS1; CDP-diacylglycerol---glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase [EC:2.7.8.5] | 18686,76         | 22959,01 | 30516,29 |
| K01002      | mdbB; phosphoglycerol transferase [EC:2.7.8.20]                                              | 4761,8           | 3742,33  | 1214,86  |
| EC:2.3.1.15 | Glycerol-3-phosphate 1-O-acyltransferase                                                     | 41978,56         | 46794,2  | 65484,22 |
| EC:2.3.1.51 | 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase                                                 | 24908,09         | 31772,6  | 59427,32 |
| K03621      | plsX; glycerol-3-phosphate acyltransferase PlsX [EC:2.3.1.15]                                | 16846,99         | 22328,85 | 31671,85 |
| K00057      | gpsA; glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD(P)+) [EC:1.1.1.94]                             | 21176,49         | 26193,7  | 46971,1  |

Bảng P2.19. Hồ sơ dự đoán chức năng liên quan đến quá trình chuyển hóa catechol từ polyphenol (catechin và phenolic acid)

| Mã số    | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)             | Độ phong phú (%) |         |        |
|----------|-----------------------------------------------|------------------|---------|--------|
|          |                                               | PC150            | PC300   | PCDC   |
| PWY-5415 | Phân hủy catechol I (con đường cắt meta)      | 1165,41          | 1037,18 | 292,25 |
| PWY-5417 | Phân hủy catechol III (con đường cắt ortho)   | 2283,45          | 0       | 92,13  |
| PWY-5419 | Phân hủy catechol thành 2-oxopent-4-enoate II | 157,26           | 0       | 33,65  |

| Mã số                          | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                               | Độ phong phú (%) |        |         |
|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|---------|
|                                |                                                                                 | PC150            | PC300  | PCDC    |
| PWY-5420                       | Phân hủy catechol II (con đường cắt meta)                                       | 248,74           | 0      | 57,95   |
| PWY-5430                       | Con đường cắt meta của các hợp chất thơm                                        | 70,74            | 0      | 51,99   |
| PWY-5431                       | Phân hủy các hợp chất thơm qua $\beta$ -ketoadipate                             | 2283,45          | 0      | 92,13   |
| CATECHOL                       |                                                                                 |                  |        |         |
| -ORTHO-CLEAVAGE<br>-PWY        | Phân hủy catechol thành $\beta$ -ketoadipate                                    | 2105,13          | 2      | 96,86   |
| PWY-5178                       | Phân hủy toluen IV (hiếu khí) (thông qua catechol)                              | 416,69           | 0      | 64,03   |
| EC:1.13.11.1                   | Catechol 1,2-dioxygenase                                                        | 1923,61          | 2      | 93,75   |
| EC:1.13.11.2                   | Catechol 2,3-dioxygenase                                                        | 7609,34          | 1414,5 | 131,75  |
| PWY-6185                       | Phân hủy 4-methylcatechol (cắt ortho)                                           | 1856,09          | 0      | 20,3    |
| K00446                         | dmpB, xylE; catechol 2,3-dioxygenase [EC:1.13.11.2]                             | 426,6            | 2      | 37,75   |
| K03381                         | catA; catechol 1,2-dioxygenase [EC:1.13.11.1]                                   | 1923,61          | 2      | 93,75   |
| K07104                         | catE; catechol 2,3-dioxygenase [EC:1.13.11.2]                                   | 7182,74          | 1412,5 | 94      |
| K15973                         | mhqR; Bộ điều hòa phiên mã họ MarR, chất ức chế regulon kháng 2-MHQ và catechol | 4962,05          | 993,56 | 1763,01 |
| K16090                         | fiiu; thụ thể siderophore dạng catecholate                                      | 7185,16          | 583,66 | 183     |
| PROTOCOL                       |                                                                                 |                  |        |         |
| ECHUATE-ORTHO-CLEAVAGE<br>-PWY | Phân hủy protocatechuate II (con đường cắt ortho)                               | 2251,68          | 3,2    | 165,85  |
| EC:1.13.11.3                   | Protocatechuate 3,4-dioxygenase                                                 | 1474,22          | 4      | 113,5   |
| K00448                         | pcaG; protocatechuate 3,4-dioxygenase, tiểu đơn vị alpha [EC:1.13.11.3]         | 720,11           | 2      | 56,75   |
| K00449                         | pcaH; protocatechuate 3,4-dioxygenase, tiểu đơn vị beta [EC:1.13.11.3]          | 748,11           | 2      | 56,75   |
| K00216                         | entA; 2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase [EC:1.3.1.28]             | 4513,8           | 570,33 | 55,86   |

| Mã số             | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                                 | Độ phong phú (%) |        |       |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|-------|
|                   |                                                                                                   | PC150            | PC300  | PCDC  |
| EC:1.13.11.1<br>4 | 2,3-dihydroxybenzoate 3,4-dioxygenase                                                             | 14               | 0      | 0     |
| EC:1.3.1.28       | 2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase                                                   | 4513,8           | 570,33 | 55,86 |
| K02363            | entE, dhbE, vibE, mxcE; 2,3-dihydroxybenzoate-AMP ligase [EC:6.3.2.14 2.7.7.58]                   | 4513,8           | 570,33 | 56,86 |
| K10621            | cmtC, dhbA; 2,3-dihydroxy-p-cumate/2,3-dihydroxybenzoate 3,4-dioxygenase [EC:1.13.11.-1.13.11.14] | 14               | 0      | 0     |
| K14333            | DHBD; 2,3-dihydroxybenzoate decarboxylase [EC:4.1.1.46]                                           | 0                | 0      | 33    |
| K09483            | quiC; 3-dehydroshikimate dehydratase [EC:4.2.1.118]                                               | 30,17            | 0      | 0     |
| EC:4.2.1.118      | 3-dehydroshikimate dehydratase                                                                    | 30,17            | 0      | 0     |
| K08172            | shiA; Bộ vận chuyển MFS, họ MHS, protein vận chuyển shikimate và dehydroshikimate                 | 4449,63          | 583,66 | 52,86 |

Bảng P2.20. Hồ sơ dự đoán chức năng liên quan đến quá trình chuyển hóa catechol từ glucose

| Mã số       | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                               | Độ phong phú (%) |          |          |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------|----------|
|             |                                                                                                 | PC150            | PC300    | PCDC     |
| K13832      | aroDE, DHQ-SDH; 3-dehydroquininate dehydratase / shikimate dehydrogenase [EC:4.2.1.10 1.1.1.25] | 0                | 17       | 0        |
| K03785      | aroD; 3-dehydroquininate dehydratase I [EC:4.2.1.10]                                            | 12086,99         | 8242,92  | 4818,7   |
| K13832      | aroDE, DHQ-SDH; 3-dehydroquininate dehydratase / shikimate dehydrogenase [EC:4.2.1.10 1.1.1.25] | 0                | 17       | 0        |
| EC:1.4.1.24 | 3-dehydroquininate synthase II                                                                  | 150              | 4178,5   | 3467,5   |
| K01735      | aroB; 3-dehydroquininate synthase [EC:4.2.3.4]                                                  | 18293,74         | 22328,2  | 43338,52 |
| EC:4.2.1.10 | 3-dehydroquininate dehydratase                                                                  | 19703,75         | 25988,2  | 46578,77 |
| EC:4.2.3.4  | 3-dehydroquininate synthase                                                                     | 18445,74         | 22495,45 | 43348,52 |

| Mã số    | Hồ sơ dự đoán chức năng<br>(KEGG)                                                | Độ phong phú (%) |          |          |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------|----------|
|          |                                                                                  | PC150            | PC300    | PCDC     |
| K03786   | aroQ, qutE; 3-dehydroquinate<br>dehydratase II [EC:4.2.1.10]                     | 7817,75          | 18140,28 | 42000,07 |
| K11646   | K11646; 3-dehydroquinate<br>synthase II [EC:1.4.1.24]                            | 150              | 4178,5   | 3467,5   |
| K13829   | aroKB; shikimate kinase / 3-<br>dehydroquinate synthase<br>[EC:2.7.1.71 4.2.3.4] | 67,5             | 22,25    | 60,75    |
| PWY-6163 | chorismate biosynthesis from 3-<br>dehydroquinate                                | 20111,41         | 28469,9  | 50951,96 |

## PHỤ LỤC 3. Kết quả phân tích các chỉ số

### 1. Kết quả phân tích mẫu đất trồng lúa



**PHÒNG TNCS**  
Đường 3 tháng 2 TP. Cần Thơ  
ĐT: 02923.834127

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập-Tự do-Hạnh phúc  
\*\*\*\*\*

---

**PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM**  
Số: 24/29/06/2022

1. Nơi gởi mẫu (đơn vị, cá nhân) : **Đặng Chí Thiện**
2. Loại mẫu : Đất ruộng
3. Số lượng mẫu : 01
4. Ngày nhận mẫu : 07/06/22
5. Tình trạng mẫu : ướt
6. Ngày thử nghiệm : 08/06/22
7. Lưu mẫu : không
8. Lấy mẫu thử nghiệm tại hiện trường : không
9. Kết quả thử nghiệm :

| STT | TÊN CHỈ TIÊU | PHƯƠNG PHÁP THỬ          | KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM |         |
|-----|--------------|--------------------------|--------------------|---------|
|     |              |                          | Đơn vị             | Kết quả |
| 1   | pH           | Soil analysis procedures | -                  | 5.47    |
| 2   | EC           |                          | μS/cm              | 92      |
| 3   | CHC          |                          | %                  | 3.04    |
| 4   | N tổng       |                          | %                  | 0.31    |
| 5   | P tổng       |                          | %                  | 0.06    |
| 6   | K tổng       |                          | %                  | 1.06    |
| 7   | Ca trao đổi  |                          | mg/kg              | 1029.02 |
| 8   | Mg trao đổi  |                          | mg/kg              | 282.75  |

Phụ trách bộ phận vô cơ



Nguyễn Quốc Trụ

Ngày 29 tháng 06 năm 2022

**Phòng thí nghiệm chuyên sâu**

TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ  
PHÒNG THÍ NGHIỆM CHUYÊN SÂU  
  
Trần Kim Tinh

1. Các kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị đối với mẫu gửi đến 2. Tên mẫu, nơi gửi ghi theo yêu cầu khách hàng  
3. Không được trích, sao một phần phiếu kết quả nếu không có sự đồng ý của trưởng phòng TNCS

BMI 5.10-04

### 2. Kết quả phân tích sản phẩm bột lá lúa



019/2017/BNN-KNTF  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
422/QĐ-CN-TÁC  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
TN 98-20 BNN  
SANG KỸ THUẬT NHẬP NHẬP 18/2017  
1614/QĐ-BVTV-KH  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP

49/2021/BYT-KNTF  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
137/QĐ-QLD  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
11/2022/BCT-KNTF  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
VN20008  
JAPAN FOREIGN LABORATORY CODE

LAS - XD 1521  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
VIMCERTS 239  
CHỈ DẪN THỦ TIẾP NHẬN THỰC PHẨM BỘ NHẬP NHẬP  
102/TN-TĐC  
SANG KỸ THUẬT NHẬP NHẬP 18/2017  
73/QĐ-TĐC  
SANG KỸ THUẬT NHẬP NHẬP 18/2017

## TESTING REPORT/ BÁO CÁO KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Form code/ Mã biểu mẫu: MKL-TT04-BM03 LBH.07

### I. CLIENT INFORMATION/ THÔNG TIN KHÁCH HÀNG:

Applicant/ ref. (Khách hàng/ số yêu cầu) : TRUNG TÂM ỨNG DỤNG TIỀN BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ  
Address (Địa chỉ) : Số 166 Nguyễn Văn Cừ, Phường An Bình, Quận Ninh Kiều, Thành phố Cần Thơ

### II. SAMPLE INFORMATION AND TESTING REQUISITION/ THÔNG TIN MẪU VÀ YÊU CẦU:

JOB No. (Số phiếu yêu cầu phân tích) : YC112415060  
Information provided by applicant : IR504 dạng bột  
(Thông tin được khách hàng cung cấp) : 15/12/2022  
Sample description (Mô tả mẫu) : Mẫu được chứa trong túi zip  
Seal No (Số niêm) : Không niêm  
Source of sample (Nguồn mẫu) : Khách hàng gửi mẫu  
Sample received on (Ngày nhận mẫu) : 15/12/2022  
Sample tested on (Ngày phân tích) : 15/12/2022  
Report date (Ngày trả kết quả) : 21/12/2022

#### Note / Ghi chú:

1. <sup>(1)</sup> Testing parameter is sent to subcontractor accredited by MekongLAB / Chỉ tiêu gửi nhà thầu phụ và được giám sát bởi MekongLAB.
2. <sup>(2)</sup> Parameter is accredited ISO/IEC 17025 / Chỉ tiêu được công nhận ISO/IEC 17025
3. <sup>(3)</sup> Parameter is designated by Ministry of Agriculture and Rural Development / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn
4. <sup>(4)</sup> Parameter is designated by Ministry of Industry and Trade / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Công Thương
5. <sup>(5)</sup> Parameter is designated by Ministry of Health / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Y Tế
6. <sup>(6)</sup> Parameter is designated by Ministry of Natural Resources and Environment / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Tài nguyên và Môi trường
7. ND: Not detected/ Không phát hiện D: Detected/ Phát hiện <1;<3;<10: Not detected/ sample/ Không phát hiện/ mẫu  
LOD: limit of detection/ Giới hạn phát hiện LOQ: Limit of Quantitation/ Giới hạn định lượng
8. This testing result is only valid on tested sample. It is issued under our NHO Terms and Conditions. / Kết quả phân tích chỉ có giá trị trên mẫu thử. Báo cáo này được ban hành theo những điều khoản kinh doanh của NHO
9. The above result shall not be reproduced, partly or fully, unless written approval of NHO is granted/ Không được sao chép kết quả này, một phần hay toàn bộ, nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của đại diện NHO

Authorized Technical Representative  
Phụ trách kỹ thuật

PHẠM THỊ HỒNG TRANG

On behalf of NHO  
Đại diện NHO

HOÀNG BÁ NGHỊ



#### NHONHO TECHNOLOGY COMPANY LIMITED

Hà Nội office: Km 11, National Highway 21, Thanh Thát district, Hà Nội city.  
HCM office 1: Van Dai tower, street 1, Tan Binh Industrial Park, Tan Phu district, HCM city.  
HCM office 2: BE 16, street 12, Phong Phu 4 KDC, Binh Chanh district, HCM city.

Hotline: +84 905 339 668

Website: www.nhoho.com

Can Tho office 1: K2 - 17, Vo Nguyen Giáp street, Cai Rang district, Can Tho city.  
Can Tho office 2: Area 6, Hung Thanh ward, Cai Rang district, Can Tho city.  
Thai Nguyen office: 37 Thanh Khát street, Thai Nguyen city, Thai Nguyen province.

Email: info@nhoho.com

Page/ Trang 1 / 2



# TESTING REPORT/ BÁO CÁO KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Form code/ Mã biểu mẫu: MKL-TT04-BM03 LBH.07

| <b>Code/ Mã mẫu:</b> YC112415060/1                        |                                                |                 |          |                     |
|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------|----------|---------------------|
| <b>Sample name/ Tên mẫu:</b> IR504 dạng bột<br>15/12/2022 |                                                |                 |          |                     |
| Test Parameter/<br>Chỉ tiêu phân tích                     | Test Method/<br>Phương pháp                    | Unit/<br>Đơn vị | LOD      | Result/<br>Kết quả  |
| Định lượng nấm men, mốc. <sup>(*)</sup>                   | ISO 21527-1:2008 ISO 21527-2:2008              | CFU/g           | 10 CFU/g | <10                 |
| Clostridium perfringens <sup>(*)</sup>                    | ISO 7937:2004                                  | CFU/g           | 10 CFU/g | <10                 |
| Định lượng E. Coli <sup>(*)</sup>                         | TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2:2001)            | CFU/g           | 10 CFU/g | <10                 |
| Định lượng Bacillus cereus <sup>(*)</sup>                 | ISO 7932:2004 (TCVN 4992:2005)                 | CFU/g           | 10 CFU/g | <10                 |
| Định lượng vi sinh vật hiếu khí (TPC) <sup>(*)</sup>      | TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013)             | CFU/g           | 10 CFU/g | 2.2x10 <sup>3</sup> |
| Asen (As) <sup>(*)</sup>                                  | AOAC 986.15                                    | mg/kg           | 0.010    | ND                  |
| Thủy ngân (Hg) <sup>(*)</sup>                             | AOAC 971.21                                    | mg/kg           | 0.010    | ND                  |
| Chì (Pb) <sup>(*)</sup>                                   | AOAC 999.11                                    | mg/kg           | 0.016    | ND                  |
| Kẽm (Zn) <sup>(*)</sup>                                   | AOAC 999.11                                    | mg/kg           | 0.200    | ND                  |
| Cadimi (Cd) <sup>(*)</sup>                                | AOAC 999.11                                    | mg/kg           | 0.002    | ND                  |
| Đồng (Cu) <sup>(*)</sup>                                  | AOAC 999.11                                    | mg/kg           | 0.200    | ND                  |
| Aflatoxin tổng số <sup>(*)</sup>                          | MKL-HH307 Ref: TCVN 7596:2007(ISO 16050: 2003) | µg/kg           | 0.500    | ND                  |
| Aflatoxin B1 <sup>(*)</sup>                               | MKL-HH307 Ref: TCVN 7596:2007(ISO 16050: 2003) | µg/kg           | 0.500    | ND                  |
| <b>Code/ Mã mẫu:</b> YC112415060/5                        |                                                |                 |          |                     |
| <b>Sample name/ Tên mẫu:</b> IR504 dạng bột<br>15/12/2022 |                                                |                 |          |                     |
| Test Parameter/<br>Chỉ tiêu phân tích                     | Test Method/<br>Phương pháp                    | Unit/<br>Đơn vị | LOD      | Result/<br>Kết quả  |
| Định lượng Coliforms                                      | TCVN 6848:2007 (ISO 4832:2006)                 | CFU/g           | 10 CFU/g | <10                 |



019/2017/BNN-KNTP  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM THỰC PHẨM BỘ NNP/NT  
422/QĐ-CN-TÁC  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM TÁCH RỎ NHẬP/NT  
TN 98-20 BNN  
ĐĂNG KÝ THỬ NGHIỆM TẤT TỶ BỘ NHẬP/NT  
1614/QĐ-BVTV-KH  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM PHÂN BÓN BỘ NHẬP/NT

49/2021/BYT-KNTP  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM THỰC PHẨM BHYT  
137/QĐ-QLD  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM THUỐC, MỸ PHẨM BHYT  
11/2022/BCT-KNTP  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM THỰC PHẨM BCT  
VN20008  
JAPAN FOREIGN LABORATORY CODE

LAS - XD 1521  
CHỈ ĐỊNH THỬ NGHIỆM XÂY DỰNG BGD  
VIMCERTS 239  
CHỈ ĐỊNH MÔI TRƯỜNG BỘ TN/NT  
102/TN-TĐC  
ĐĂNG KÝ THỬ NGHIỆM BỘ KHÁCH  
73/GĐ-TĐC  
ĐĂNG KÝ QUẢN LÝ BỘ KHÁCH

## TESTING REPORT/ BÁO CÁO KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Form code/ Mã biểu mẫu: MKL-TT04-BM03 LBH.07

### I. CLIENT INFORMATION/ THÔNG TIN KHÁCH HÀNG:

Applicant/ ref. (Khách hàng/ số yêu cầu) : TRUNG TÂM ỨNG DỤNG TIỀN BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ  
Address (Địa chỉ) : Số 166 Nguyễn Văn Cừ, Phường An Bình, Quận Ninh Kiều, Thành phố Cần Thơ

### II. SAMPLE INFORMATION AND TESTING REQUISITION/ THÔNG TIN MẪU VÀ YÊU CẦU:

JOB No. (Số phiếu yêu cầu phân tích) : YC112415060  
Information provided by applicant : IR504 dạng dung dịch  
(Thông tin được khách hàng cung cấp) : 14/12/2022  
Sample description (Mô tả mẫu) : Mẫu được chứa trong túi zip  
Seal No (Số niêm) : Không niêm  
Source of sample (Nguồn mẫu) : Khách hàng gửi mẫu  
Sample received on (Ngày nhận mẫu) : 15/12/2022  
Sample tested on (Ngày phân tích) : 15/12/2022  
Report date (Ngày trả kết quả) : 21/12/2022

#### Note / Ghi chú:

- <sup>(1)</sup> Testing parameter is sent to subcontractor accredited by MekongLAB / Chỉ tiêu gửi nhà thầu phụ và được giám sát bởi MekongLAB.
- <sup>(1)</sup> Parameter is accredited ISO/IEC 17025 / Chỉ tiêu được công nhận ISO/IEC 17025
- <sup>(2)</sup> Parameter is designated by Ministry of Agriculture and Rural Development / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn
- <sup>(3)</sup> Parameter is designated by Ministry of Industry and Trade / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Công Thương
- <sup>(4)</sup> Parameter is designated by Ministry of Health / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Y Tế
- <sup>(5)</sup> Parameter is designated by Ministry of Natural Resources and Environment / Chỉ tiêu được chỉ định bởi Bộ Tài nguyên và Môi trường
- ND: Not detected/ Không phát hiện D: Detected/ Phát hiện <1;<3;<10: Not detected/g sample/ Không phát hiện/g mẫu  
LOD: limit of detection/ Giới hạn phát hiện LOQ: Limit of Quantitation/ Giới hạn định lượng
- This testing result is only valid on tested sample. It is issued under our NHO Terms and Conditions / Kết quả phân tích chỉ có giá trị trên mẫu thử. Báo cáo này được ban hành theo những điều khoản kinh doanh của NHO
- The above result shall not be reproduced, partly or fully, unless written approval of NHO is granted/ Không được sao chép kết quả này, một phần hay toàn bộ, nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của đại diện NHO

Authorized Technical Representative  
Phụ trách kỹ thuật

PHẠM THỊ HỒNG TRANG

On behalf of NHO  
Đại diện NHO



HOÀNG BÁ NGHỊ



#### NHONHO TECHNOLOGY COMPANY LIMITED

- Ha Noi office: Km 11, National highway 21, Thanh That district, Ha Noi city.  
- HCM office 1: Van Dat tower, street 1, Tan Binh Industrial Park, Tan Phu district, HCM city.  
- HCM office 2: BE 18, street 12, Phong Phu 4 KDC, Binh Chanh district, HCM city.

Hotline: +84 901 339 669

Website: www.nhohv.com

- Can Tho office 1: K2 - 17, Vo Nguyen Giap street, Cai Rang district, Can Tho city.  
- Can Tho office 2: Area 6, Hung Thanh ward, Cai Rang district, Can Tho city.  
- Thai Nguyen office: 07 Thong Nhat street, Thai Nguyen city, Thai Nguyen province.

Email: info@nhohv.com

Page/ Trang: 1 / 2



# TESTING REPORT/ BÁO CÁO KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Form code/ Mã biểu mẫu: MKL-TT04-BM03 LBH 07

Code/ Mã mẫu: YC112415060/3

Sample name/ Tên mẫu: IR504 dạng dung dịch  
14/12/2022

| Test Parameter/<br>Chỉ tiêu phân tích                | Test Method/<br>Phương pháp                    | Unit/<br>Đơn vị | LOD      | Result/<br>Kết quả  |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------|----------|---------------------|
| Định lượng nấm men, mốc <sup>(*)</sup>               | ISO 21527-1:2008 ISO 21527-2:2008              | CFU/ml          | 1 CFU/ml | <1                  |
| Clostridium perfringens <sup>(*)</sup>               | ISO 7937:2004                                  | CFU/ml          | 1 CFU/ml | <1                  |
| Định lượng Coliforms <sup>(*)</sup>                  | TCVN 6848:2007 (ISO 4832:2006)                 | CFU/ml          | 1 CFU/ml | <1                  |
| Định lượng E.Coli <sup>(*)</sup>                     | TCVN 7924-2:2008 (ISO 16649-2:2001)            | CFU/ml          | 1 CFU/ml | <1                  |
| Định lượng Bacillus cereus <sup>(*)</sup>            | ISO 7932:2004 (TCVN 4992:2005)                 | CFU/ml          | 1 CFU/ml | <1                  |
| Định lượng vi sinh vật hiếu khí (TPC) <sup>(*)</sup> | TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013)             | CFU/ml          | 1 CFU/ml | 5.7x10 <sup>4</sup> |
| Asen (As) <sup>(*)</sup>                             | AOAC 986.15                                    | mg/L            | 0.010    | ND                  |
| Thủy ngân (Hg) <sup>(*)</sup>                        | AOAC 971.21                                    | mg/L            | 0.010    | ND                  |
| Chì (Pb) <sup>(*)</sup>                              | AOAC 999.11                                    | mg/L            | 0.016    | ND                  |
| Kẽm (Zn) <sup>(*)</sup>                              | AOAC 999.11                                    | mg/L            | 0.200    | ND                  |
| Cadimi (Cd) <sup>(*)</sup>                           | AOAC 999.11                                    | mg/L            | 0.002    | ND                  |
| Đồng (Cu) <sup>(*)</sup>                             | AOAC 999.11                                    | mg/kg           | 0.200    | ND                  |
| Aflatoxin tổng số <sup>(*)</sup>                     | MKL-HH307 Ref: TCVN 7596:2007(ISO 16050: 2003) | µg/kg           | 0.500    | ND                  |
| Aflatoxin B1 <sup>(*)</sup>                          | MKL-HH307 Ref: TCVN 7596:2007(ISO 16050: 2003) | µg/kg           | 0.500    | ND                  |



**CÔNG TY CỔ PHẦN CHỨNG NHẬN VÀ KIỂM NGHIỆM FAO**  
FAO CERTIFICATION AND TESTING JOINT STOCK COMPANY

**TRUNG TÂM KIỂM NGHIỆM FAO/ FAO TESTING CENTER**

TRUNG TÂM KIỂM NGHIỆM FAO CHI NHÁNH HÀ NỘI  
A15, Quốc lộ 21, Phường Phú Lương, Quận Hà Đông, Thành phố Hà Nội, Việt Nam  
☎ +84-201 080 444 - info@faotestingcenter.com.vn  
TRUNG TÂM KIỂM NGHIỆM FAO CHI NHÁNH CẦN THƠ  
E4-2 Lê Văn Tưởng, Khu dân cư 1990, Phường Phú Thứ, Quận Cái Rang,  
Thành phố Cần Thơ, Việt Nam  
☎ +84-980 444 038 - info@faotestingcenter.com.vn

FAO TESTING CENTER - HÀ NỘI BRANCH  
A15, Highway 21, Phu Luong Ward, Ha Dong District, Ha Noi City, Vietnam  
☎ +84-201 080 444 - info@faotestingcenter.com.vn  
FAO TESTING CENTER - CẦN THƠ BRANCH  
E4-2 Le Van Tuong, 1990 Residential Area, Phu Thu Ward, Cai Rang District,  
Can Tho City, Vietnam  
☎ +84-980 444 038 - info@faotestingcenter.com.vn



## BÁO CÁO KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT

Số /No.: 230428.02.01  
Ngày/ Date: 03/05/2023

Tên khách hàng/ Client's name: **TRUNG TÂM ỨNG DỤNG TIẾN BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**  
Địa chỉ/ Address: 166, Nguyễn Văn Cừ, P. An Bình, Q. Ninh Kiều, TP. Cần Thơ  
Tên mẫu/ Name of sample: IR504  
Mô tả mẫu/ Sample description: Mẫu dạng lỏng chứa trong túi PE, dán kín, bảo quản lạnh  
Ngày nhận mẫu/ Date of sample receipt: 28/04/2023  
Ngày bắt đầu phân tích/ Date of analysis commencement: 28/04/2023

### KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM/ TEST RESULTS

| Stt/<br>No | Chỉ tiêu/<br>Parameter        | Đơn vị tính/<br>Unit | Kết quả/<br>Result | LOQ | Phương pháp/<br>Method         |
|------------|-------------------------------|----------------------|--------------------|-----|--------------------------------|
| 1          | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | CFU/100 mL           | <1                 | -   | ISO 16266:2006 (**)            |
| 2          | <i>Staphylococcus aureus</i>  | CFU/mL               | <1                 | -   | ISO 6888-1:1999/ Amd1:2003 (*) |
| 3          | <i>Candida albicans</i>       | CFU/mL               | <1                 | -   | ISO 21527-2:2008 (*)           |

Phòng kiểm nghiệm/ Laboratory

Nguyễn Hồng Nhung



Giám đốc/ Director

Trần Như Ý

#### Ghi chú/ Notes:

KPH; <10; <3; <1: Không phát hiện/ Not detected.

(\*) Phương pháp được công nhận theo TCVN ISO/IEC 17025:2017/ The method is accredited according to ISO / IEC 17025: 2017.

(\*\*) Chỉ tiêu được thử nghiệm dịch vụ bên ngoài/ Targets for external service testing.

-Kết quả này chỉ có giá trị trên mẫu thử. Phòng thí nghiệm sẽ cung cấp độ đo không đảm bảo với từng chỉ tiêu khi khách hàng yêu cầu/ This result is valid only on the test sample. The laboratory will provide measurement uncertainty with each specification as required by the customer.

-Tên mẫu và tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ Name of sample and Client's name are recorded at the request of the customer.

-Không được sao chép một phần hay toàn bộ báo cáo kết quả thử nghiệm này khi không có sự đồng ý bằng văn bản của Ban Giám đốc Công ty Cổ phần Chứng nhận và Kiểm nghiệm FAO / Do not copy each separate or full part of the test report without the written approval of the Board of Directors of FAO.

Trang/ Page: 1/1



ISO/IEC 17025

**TRUNG TÂM KỸ THUẬT**  
**TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG CẦN THƠ**  
**CANTHO TECHNICAL CENTER OF STANDARDS METROLOGY AND QUALITY**

Địa chỉ: 45 đường 3/2 - TP. Cần Thơ  
 Add: No 45 - 3/2 Street Cantho City  
 Tel: 0292.3830353 - Fax: 0292.3830976  
 Email: catech@cantho.gov.vn  
 Website: catech.vn

Số: 0402/HL/0219/0423

**PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM**  
**TEST REPORT**

Ngày: 17/04/2023  
 Trang: 1/1

1. Tên mẫu và ký hiệu : Dịch chiết lá lúa (IR504)
2. Số lượng mẫu : 01 mẫu (khoảng 250mL)
3. Ngày nhận mẫu : 11/04/2023
4. Tình trạng mẫu : Mẫu đựng trong tuýp nhựa
5. Ngày thử nghiệm : Từ 11/04/2023 đến 15/04/2023
6. Nơi gửi mẫu / Yêu cầu : **TRUNG TÂM ỨNG DỤNG TIỀN BỘ KH&CN TP.CẦN THƠ**  
166 Nguyễn Văn Cừ, P. An Bình, Q. Ninh Kiều, TP. Cần Thơ
7. Lưu mẫu : Không ☒ Có ☐ Đến ngày: .....
8. Lấy mẫu, TN tại hiện trường : Không
9. Kết quả thử nghiệm :

| STT | Chỉ tiêu             | Đơn vị | Phương pháp thử | Kết quả |
|-----|----------------------|--------|-----------------|---------|
| 1   | Hàm lượng Etanol (%) | % v/v  | HD 15-TP-1.3.2  | 1,50    |

Ghi chú: - (%): chỉ tiêu được công nhận ISO/IEC 17025.

**TRƯỞNG PHÒNG THỬ NGHIỆM**  
**HÓA SINH**



VILAS 086

**PH. GIÁM ĐỐC**  
**PHÓ GIÁM ĐỐC**



*Nguyễn Chí Tâm*  
**Nguyễn Chí Tâm**

1. Các kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị đối với mẫu gửi đến.  
*Test results are valid for the namely submitted sample(s) only.*
2. Tên mẫu, nơi gửi được ghi theo yêu cầu của khách hàng.  
*Name of sample and client are reported as the client's request.*
3. Không được trích, sao một phần phiếu kết quả nếu không có sự đồng ý của Trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng Cần Thơ (CATECH).  
*This Test Report shall not be reproduced except in full, without the written approval of CATECH.*

### 3. Phiếu chấp thuận của Hội đồng Y đức



**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC CẦN THƠ**  
**HỖ ĐỒ TRONG NC TRÊN ĐVTN**

Số: 25.002.GV.NT/PCT-HĐĐĐ

**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM**  
**Độc lập – Tự do – Hạnh phúc**

Cần Thơ, ngày 02 tháng 04 năm 2025

**PHIẾU CHẤP THUẬN**  
**CỦA HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU TRÊN ĐỘNG VẬT**  
**THỰC NGHIỆM TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC CẦN THƠ**

- Căn cứ Quyết định số 1483/QĐ-ĐHYDCT ngày 14 tháng 04 năm 2025 của Hiệu trưởng Trường Đại học Y Dược Cần Thơ về việc Ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu trên động vật thí nghiệm tại trường Đại học Y Dược Cần Thơ;

- Căn cứ trên hồ sơ phân biện, phiếu tổng hợp của thư ký hội đồng và tờ trình;

Nay Hội đồng đạo đức chấp thuận (cho phép) về các khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu đối với:

- Đề tài: Evaluation of the effects of rice leaf extract on the intestinal microbiota in mice (Research under the doctoral thesis “Evaluation of antioxidant, antibacterial activities and effects on some intestinal microorganisms of young rice leaf powder (*Oryza sativa*)”)
- Chủ nhiệm đề tài: Nguyen Thi To Uyen
- Mã số đề tài: 25.002.GV.NT
- Đơn vị chủ trì: Dong Thap Medical College
- Địa điểm triển khai nghiên cứu: 179 Đ. Nguyễn Văn Cừ, P. Ninh Kiều, Cần Thơ
- Thời gian nghiên cứu: 1/8/2024 – 22/5/2025

Ngày chấp thuận (cho phép): tháng 04 năm 2025.



**TM. HỘI ĐỒNG**  
**CHỦ TỊCH**

**HIỆU TRƯỞNG**  
GS.TS. Nguyễn Trung Kiên

---



Trường Đại học Y Dược Cần Thơ (Can Tho University of Medicine and Pharmacy)

Số 179, đường Nguyễn Văn Cừ, P. An Khánh, Q. Ninh Kiều, TP. Cần Thơ.

Điện thoại: (84-0292) 3 739 730 (Phòng Hành chính tổng hợp).

Fax: (84-0292) 3 740221 ; Email: ctump@ctump.edu.vn