

TÍNH CHẤT HÓA LÝ, HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG KHUẨN CỦA BỘT SẤY PHUN DỊCH CHIẾT VỎ QUẢ MĂNG CẦU TA (*Annona squamosa* L.)

NGUYỄN THỊ TRANG¹, TRẦN THỊ PHƯƠNG NHUNG¹, PHAN TẠI HUÂN²,
TRẦN THỊ ANH THY¹, NGUYỄN THỊ TU¹

¹ Viện Công nghệ Sinh học & Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh,

² Khoa công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

nguyenthitrang@iuh.edu.vn.

Tóm tắt: Nghiên cứu tiến hành sấy phun dịch chiết vỏ măng cầu ta (*Annona squamosa* L.) với chất mang maltodextrin (DE 15-20) ở các nồng độ khác nhau (10%, 12%, 14%, 16%) tại nhiệt độ sấy 150°C, tốc độ dòng 500-600mL/h và áp suất 3-4 bar. Nồng độ chất mang vi bao thích hợp được xác định dựa vào đặc tính hoá lý, hàm lượng polyphenol tổng (TPC) và hoạt tính kháng oxy hóa của chế phẩm sấy phun. Chế phẩm vi bao đạt hiệu quả cao được tiến hành đánh giá khả năng kháng khuẩn với 6 chủng vi khuẩn thường gây hư hỏng và ngộ độc thực phẩm là *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. và *Listeria* sp. Nghiên cứu cho thấy maltodextrin 12% vi bao dịch chiết vỏ măng cầu cho kết quả tốt nhất với hàm lượng TPC 46.47±0.45 mg GAE/g CK; hoạt tính kháng oxy hóa 253.32±2.52 µmol TE/g CK (DPPH), 578.96±6.07 µmol TE/g CK (ABTS); và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với *S. aureus*, *B. cereus*, *Shigella* sp và *S. typhimurium* là 800mg/mL; còn đối với *Listeria* sp., và *E. coli* là 400 mg/mL.

Từ khóa: *Annona squamosa* L., sấy phun, kháng oxy hoá, kháng khuẩn, MIC

CHARACTERIZATION OF PHYSICAL PROPERTIES, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SPRAY-DRIED EXTRACTS OF CUSTARD APPLE PEEL (*Annona squamosa* L.)

Abstract: Spray-dried extracts of custard apple (*Annona squamosa* L.) peel were studied in different concentrations (10%, 12%, 14%, 16%) of maltodextrin (DE 15-20) as a carrier agent, using drying-inlet temperature of 150°C, flow rate of 500-600mL/h, and pressure of 3-4 bar. Physical properties, total polyphenol content (TPC) and antioxidant activity of encapsulated powders are key factors to screen the concentration of carrier agent. Antimicrobial activity of the final spray-dried powder was evaluated against 6 bacterial strains causing food poisoning diseases, including *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. and *Listeria* sp. The results showed that 12 % maltodextrin was the best concentration for the encapsulation of custard apple extract with the TPC of 46.47 ± 0.45 mg GAE/g CK; antioxidant activity of 253.32 ± 2.52 µmol TE/g CK (DPPH), 578.96 ± 6.07 µmol TE/g CK (ABTS); and minimum inhibitory concentrations (MIC) of *S. aureus*, *B. cereus*, *Shigella* sp. and *S. typhimurium* were 800mg/mL while those of *Listeria* sp., and *E. coli* were 400 mg/mL.

Key words: *Annona squamosa* L., spray drying, antioxidant, antibacterial, MIC

1. TỔNG QUAN

Măng cầu ta (*Annona squamosa* L.) có quả hình tròn hoặc thuôn dài, đường kính khoảng 6 – 10cm, khối lượng trung bình 100 – 230g/quả [1]. Khi chín, thịt quả màu trắng ngả sang màu vàng nhạt, có vị ngọt và thơm dễ chịu, phần ăn được chiếm 28 – 37% tổng trọng lượng quả và hạt chiếm với 23 – 40% [2]. Theo Morton (1987) [3] các bộ phận như lá, quả chưa chín, vỏ cây và rễ được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền để điều trị bệnh. Lá dùng chữa kiết lỵ, mụn nhọt, loét; bột quả chưa chín dùng để diệt sâu bọ, kí sinh trùng; hạt có vị chát và độc dùng để tiêu diệt chấy rận, làm thuốc trừ sâu; vỏ cây có khả năng chống loét dạ dày nhờ chứa O-methylarmepavine, N-methylcorydaldine, isocorydine [4]. Vỏ quả chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng khuẩn như flavanoids, glycoside, saponin, tannin, alkaloid, anonain, higenamine, roemerine, noreorydine, norisocorydine, isocorydine, glaucine... [5]. Có 19 loại

alkaloids được phân lập từ măng cầu có hoạt tính chống tăng huyết áp, chống co thắt, kháng histamine, chống viêm [6]. Một số diterpens được phân lập từ vỏ cây có khả năng chống lại các tế bào ung thư phổi và ung thư buồng trứng [7]; hoạt tính sinh học chính của Annonaceous Acetogenins có trong măng cầu ta chống lại các tế bào ung thư và ức chế chống lại phức hợp ty thể I (NADH-ubiquinone oxidoreductase) [8,9]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về loài cây này chỉ tập trung vào phân quả, hạt, lá và vỏ cây mà chưa đi sâu vào nghiên cứu bảo quản dịch chiết vỏ quả.

Măng cầu ta có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học đặc trưng ở thực vật như glycoside, alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, hợp chất phenolic [10]. Tuy nhiên, các hợp chất polyphenol dễ bị phân hủy bởi nhiệt độ, ánh sáng, không khí và một số ít polyphenol khó tan trong nước hoặc mùi vị khó chịu trong quá trình sử dụng và bảo quản. Sấy phun là một phương pháp bảo quản đã được sử dụng rộng rãi để sản xuất rau, quả khô và được phẩm thương mại. Hơn nữa, phương pháp sấy phun rất thích hợp để sấy các sản phẩm có các thành phần nhạy cảm với oxy, ánh sáng, đặc biệt là các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol. Phương pháp này đã được nghiên cứu thành công để ổn định hoạt tính polyphenol trong thực phẩm thực vật, chẳng hạn được ứng dụng trên 2 loài là *Morinda Citrifolia* L. [11] và *Embllica officinalis* [12]. Sấy phun dịch chiết vỏ măng cầu ta là một phương pháp để bảo quản tốt các hợp chất có hoạt tính sinh học, sản phẩm có hoạt độ nước thấp, dễ bảo quản và vận chuyển. Tuy nhiên, hoạt tính kháng oxy hóa và khả năng kháng khuẩn của bột sấy phun dịch chiết xuất vỏ quả măng cầu ta với chất mang maltodextrin chưa được nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng nồng độ của chất mang maltodextrin đến hàm lượng polyphenol, hoạt tính kháng oxy, các thông số hóa lý của chế phẩm sấy phun. Với chế phẩm sấy phun vì bao được lựa chọn, tiến hành khảo sát khả năng kháng khuẩn, xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), vòng kháng khuẩn đối với các chủng vi khuẩn phổ biến gây hư hỏng và ngộ độc thực phẩm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguyên liệu

Quả măng cầu ta được thu hoạch ở tỉnh Tây Ninh (Việt Nam). Mỗi quả có trọng lượng trung bình khoảng 200 - 250g, đường kính 7,5 cm. Vỏ quả măng cầu được rửa, bóc vỏ và sấy khô ở 60°C cho đến khi đạt được độ ẩm $\leq 12\%$, nghiền thành bột có kích thước $<0,5$ mm. Bột măng cầu được đóng gói chân không (mỗi gói 50g) và bảo quản ở nhiệt độ phòng dùng cho các thí nghiệm [13].

Dịch trích: Tiến hành trích ly polyphenol từ bột vỏ măng cầu với dung môi ethanol 60%, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 25/1 (v/w). Sau đó, trích ly có hỗ trợ vi sóng (công suất 214 W, thời gian 5 phút, lò vi sóng Sanyo, Nhật Bản). Dung dịch thí nghiệm thu được đem ly tâm với lực ly tâm tương đối (RCF) 2403 x g, 15 phút để bỏ bã thu được dịch trích polyphenol.

Cao chiết măng cầu: thực hiện cô quay chân không dịch trích ly polyphenol ở 45°C bằng máy IKA trong thời gian 30 phút để dịch chiết có độ Brix xấp xỉ 4% [13]

2.2 Vi khuẩn

Sáu chủng vi khuẩn sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn trong nghiên cứu này gồm *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria* sp. và *Shigella* sp. được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Công nghệ hóa học và dầu khí, Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3 Hóa chất

Folin-Ciocalteu (Merk), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) và ABTS [2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] (Sigma) được sử dụng để đánh giá TPC và khả năng kháng oxy hóa. Các hóa chất khác bao gồm C_2H_5OH , $FeCl_3$, H_2SO_4 , $CHCl_3$, $(CH_3CO)_2O$, HCl , NH_3 , $C_5H_{12}O$, $NaOH$, NH_4OH , C_6H_6 , DMSO đạt chuẩn độ tinh sạch trong hóa phân tích. MHA (Mueller-Hilton Agar, xuất xứ Ấn Độ) được dùng làm môi trường thử nghiệm. Đĩa giấy đường kính 6mm, kháng sinh Gentamycin có nồng độ 10 $\mu g/mL$ do công ty TNHH Nam Khoa sản xuất đạt tiêu chuẩn quốc tế. Maltodextrin (xuất xứ Trung Quốc) có chỉ số DE 15 -20, dạng bột mịn, màu trắng, có độ hòa tan tốt trong nước, độ ẩm 3.9 %.

2.4 Thiết kế thí nghiệm vi bao

Maltodextrin (MD) bổ sung vào cao chiết vỏ măng cầu theo tỷ lệ với nồng độ (g/mL): 10% (MD10%), 12% (MD12%), 14% (MD14%), 16% (MD16%) tiếp theo đồng hóa với tốc độ khuấy 2000 vòng/ phút trong khoảng 5 phút, lọc và tiến hành sấy phun ở nhiệt độ 150°C, tốc độ dòng 500- 600mL/h, áp suất 3- 4 bar.

2.5 Đánh giá các thông số thí nghiệm

Xác định độ ẩm

Độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi. Cân 5 gam mẫu cho vào máy sấy ẩm hồng ngoại. Dưới tác dụng của tia hồng ngoại làm nóng mẫu và bốc hơi nước trong mẫu. Khi kết thúc, máy sẽ hiển thị độ ẩm của mẫu.

Xác định màu sắc mẫu bột

Sử dụng máy đo màu KONICA MINOLTA hiệu chuẩn bằng gạch trắng. Kết quả đo được thể hiện bằng giá trị Hunter màu L*, a*, b*, với L* biểu thị độ sáng và tối, a* biểu thị sắc đỏ và xanh lá và b* là sắc vàng và xanh dương [14].

Xác định dung trọng khối bột

Cho 2 gam bột sấy phun vào ống chia độ 10mL và lắc trong 1 phút. Tỷ trọng của khối bột là tỷ lệ khối lượng của bột và thể tích đọc trên ống đong [15].

Xác định độ hút ẩm

Cho 1,5 gam bột sấy phun vào hộp kín 25°C chứa dung dịch bão hòa natri cacbonat. Cân mẫu sau 1 tuần và tính toán độ hút ẩm bằng số gam ẩm hấp phụ trên 100 gam bột khô [16].

Xác định độ hòa tan

Cho 2g bột sấy phun vào 25mL nước và khuấy đều. Đưa vào ống ly tâm 100mL ủ 30 phút ở 37°C. Ly tâm 20 phút với lực ly tâm tương đối (RCF) 3461 x g. Thu cẩn thận phần gạn ở phía trên cho vào một becker đã biết khối lượng. Sấy đến khối lượng không đổi ở 103 ± 2°C. Đo độ hòa tan là tỷ lệ giữa khối lượng sau khi sấy và khối lượng ban đầu (2g) [17].

Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (FC). Cho 0.1 mL dịch trích phản ứng với 1,8mL FC 10%, lắc đều để yên 5 phút, thêm 1,2 mL Na₂CO₃ 15% và định mức đến 10mL bằng nước cất, để yên trong bóng tối 90 phút và đo độ hấp thụ ở bước sóng 735nm. Xây dựng đường chuẩn bằng acid galic và TPC được tính theo mg GAE/g CK (GAE: galic acid equivalent, CK: chất khô) [18].

Xác định hoạt tính chống oxi hóa theo DPPH

Xác định hoạt tính chống oxi hóa (TEAC: trolox equivalent antioxidant capacity) với chất chuẩn Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) và Trolox. Cho 4mL DPPH 0.1mM phản ứng với 0.1 mL dịch chiết, hỗn hợp được định mức đến 5mL bằng cồn, để yên 30 phút trong bóng tối ở nhiệt độ phòng và đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Xây dựng đường chuẩn bằng Trolox và TEAC được tính theo μmol Trolox/g chất khô (CK)[19,20].

Xác định hoạt tính chống oxi hóa theo ABTS

Xác định TEAC, với chất chuẩn ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)) và trolox. Cho 3mL ABTS có độ hấp thụ 0.7 ± 0.02 phản ứng với 0.1 mL dịch chiết, hỗn hợp được định mức đến 5mL bằng cồn, để yên 15 phút trong bóng tối ở nhiệt độ phòng và đo độ hấp thụ ở bước sóng 734 nm. Xây dựng đường chuẩn bằng Trolox và TEAC được tính theo μmol Trolox/g chất khô (CK) [21].

Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong bột sấy phun

Phương pháp định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học được thực hiện theo mô tả Evan, (2002) [22]

Bảng 1. Các phương pháp định tính một số hợp chất tự nhiên

Hợp chất được định tính	Thực hiện phản ứng định tính	Kết quả phản ứng
Tannin	1 mL dịch chiết + 10 mL nước cất + 2-3 giọt FeCl ₃ 5%	Tủa màu xanh đen
Saponin	5 mL dịch chiết + 10 mL nước cất + lắc 30 giây và giữ 30 phút.	Bọt bền
Steroid	1 mL dịch chiết + 10 mL CHCl ₃ + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ đậm đặc	Vòng tách màu vàng
Terpenoid	2 mL dịch chiết + 2 mL (CH ₃ CO) ₂ O + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ đậm đặc	Trong suốt, màu đỏ sang
Anthoxyanin	2 mL dịch chiết + 2 mL HCl 2N + 2-3 giọt NH ₃	Màu hồng đỏ hoặc xanh tím

Leucoanthoxyanin	5 mL dịch chiết + 5 mL C ₅ H ₁₂ O	Màu đỏ
Coumarin	2 mL dịch chiết + 3 mL NaOH 10%	Màu đỏ cam
Emodin	2 mL dịch chiết + 2 mL NH ₄ OH 10% + 3 mL C ₆ H ₆	Lớp dưới có màu đỏ, trong suốt

Xác định vòng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa giấy

Bột sấy phun có hàm lượng TPC, TEAC cao nhất trong phạm vi nghiên cứu, được pha loãng trong DMSO 5% thành các nồng độ 800, 400, 200, 100, 50 mg/mL. Dịch nuôi vi khuẩn được pha loãng trong nước muối sinh lý có độ đục $\geq 0,5$ Mc Farland tương đương mật độ vi khuẩn là 1.5×10^8 cfu/mL được trải đều trên môi trường MHA đặc được chuẩn bị trước 24 giờ đã loại bỏ những đĩa bị nhiễm. Hút 10 μ l dịch mẫu cho từng nồng độ thấm vào đĩa giấy 6 mm vô trùng, chờ khô rồi đặt lên mặt thạch đã trải vi khuẩn, đè nhẹ để đĩa giấy cố định trên mặt thạch. Đĩa giấy chứng dương là gentamycin (10 μ g/mL) và chứng âm là dung dịch Dimethyl sulfoxide 5% (DMSO). Chuyển các đĩa petri cho vào tủ ấm 37°C trong 18-24 giờ. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đo đường kính vòng kháng khuẩn hình thành sau 18 giờ, nồng độ polyphenol thấp nhất hình thành vòng kháng khuẩn là MIC [23, 37].

2.6 Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm giá trị sai số. Kết quả được tính toán bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010, phần mềm thống kê Stagraphic và phân tích ANOVA với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự thay đổi dung trọng, tính hút ẩm và chỉ số hòa tan của chế phẩm sấy phun

Sự thay đổi dung trọng của chất mang và chế phẩm vi bao với nồng độ chất mang khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0.05$ (Bảng 2). Nguyên liệu vi bao có dung trọng cao hơn chế phẩm sấy phun, cụ thể chế phẩm sấy phun có dung trọng từ 0.48 đến 0.52 g/mL, đối với maltodextrin là 0.54g/mL. Khi sấy nhiệt độ cao, dịch chiết cùng chất mang được phun qua vòi phun có kích thước nhỏ và tốc độ lớn tạo thành giọt rất nhỏ, bề mặt của giọt lỏng nhanh chóng khô, tạo thành lớp không thấm nước trên bề mặt (hạn chế kết tụ giọt) sau đó thành các bong bóng hơi tăng kích thước nên tỉ trọng nhỏ hơn so với chất mang ban đầu. Dung trọng của chế phẩm vi bao MD trong nghiên cứu này gần bằng với nghiên cứu dùng MD sấy phun dịch quả của loài *Embllica officinalis* có dung trọng 0.52g/mL và cao hơn bột sấy phun từ dịch quả của loài *Euterpe oleraceae mart* có dung trọng là 0.32g/mL [12, 21]. Ngoài ra, dung trọng cao đồng nghĩa với có ít không gian trống giữa các hạt vi bao, ngăn cản sự oxy hóa và kéo dài thời gian bảo quản của chế phẩm sấy phun [24].

Bảng 2. Dung trọng, tính hút ẩm và chỉ số hòa tan của chế phẩm sấy phun

Nồng độ chất mang	Dung trọng (g/mL)	Tính hút ẩm (g/100g)	Độ hòa tan (%)
MD	0.54 \pm 0.016 ^a	20.38 \pm 0.254 ^a	93.20 \pm 0.64
MD10%	0.48 \pm 0.019 ^b	26.32 \pm 0.168 ^b	93.70 \pm 0.07 ^a
MD12%	0.52 \pm 0.010 ^c	27.94 \pm 0.406 ^c	94.02 \pm 0.32 ^a
MD14%	0.51 \pm 0.017 ^c	28.94 \pm 0.025 ^d	94.41 \pm 0.06 ^a
MD16%	0.52 \pm 0.011 ^c	30.15 \pm 0.160 ^e	95.27 \pm 0.62 ^b

Các giá trị trong cùng một cột có ký tự in thường khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0.005$. Sau quá trình sấy phun, chế phẩm vi bao có độ hút ẩm tăng lên rõ rệt và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0.05$. Độ hút ẩm của các chế phẩm tăng so với chất mang ban đầu do ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn chất mang, nhiệt độ sấy cũng như tốc độ dòng. Khả năng hút ẩm cao gây bất lợi cho quá trình lưu trữ chế phẩm sấy phun. Mỗi loại nguyên liệu vi bao khác nhau và kích thước hạt cũng ảnh hưởng rất lớn đến độ hút ẩm. Trong đó, kích thước hạt ảnh hưởng đáng kể đến khả năng hút ẩm, kích thước hạt nhỏ hơn, bề mặt tiếp xúc càng lớn dẫn đến sự hấp thụ nước từ không khí xung quanh cao hơn [25]. Tuy nhiên, chế phẩm sấy phun trong nghiên cứu này có độ hút ẩm thấp hơn nghiên cứu Mishra và cộng sự (2014) [12] cụ thể bột sấy phun từ dịch quả của loài *Embllica officinalis* bằng MD có độ hút ẩm là 46.03 – 53.01 g/100g của và bột sấy phun dịch chiết saffron (*Crocus sartivus*) là có độ hút ẩm từ 46.6 - 63.47 % [26]

Độ hòa tan là một trong những tính chất quan trọng của bột sấy phun. Bột có độ hòa tan trong nước càng cao thì có tính ứng dụng phổ biến. Độ hòa tan của chế phẩm sấy phun của nghiên cứu từ 93.70% - 95.27% có sự khác biệt rất ít với độ hòa tan của maltodextrin ban đầu (93.20%). Độ hòa tan của chế phẩm nghiên cứu sau sấy phun tăng do sự thay đổi kích thước hạt, mật độ, độ xốp, diện tích bề mặt, sự hiện diện của các chất lưỡng tính và hoạt động bề mặt so với nguyên liệu vi bao ban đầu [27]. Hạt có kích thước nhỏ, mật độ cao và có đặc tính ưa nước sẽ hòa tan trong nước nhanh hơn. Kết quả thí nghiệm cho thấy tất cả các sản phẩm bột sấy phun từ nghiên cứu của chúng tôi đều có độ hòa tan cao hơn hoặc tương đương với các sản phẩm khác từ những nghiên cứu trước đây như dầu bơ (7.61-18.05%)[28], bột cà chua (17.65% - 26.73%) [29] và cao hơn bột bột gấc (36.91–38.25%) [30] và bột hà thủ ô [13].

3.2 Thông số màu của chế phẩm sấy phun

Màu sắc của bột sấy phun là một trong những chỉ tiêu được quan tâm. Do đó, chế phẩm sau khi sấy phun được tiến hành đo các thông số màu với kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3 Các thông số màu sắc của chất mang và chế phẩm vi bao

Mẫu	MD	MD10%	MD12%	MD14%	MD16%	
L*	98.44 ±00 ^a	92.38±0.30 ^b	93.43±0.04 ^c	94.30±0.06 ^d	94.89±0.11 ^e	
Màu	a*	0.16 ±0.01 ^a	0.80 ± 0.011 ^b	0.68 ± 0.015 ^c	0.68±0.005 ^c	0.56 ±0.015 ^d
	b*	1.33 ±0.01 ^a	5.80 ±0.02 ^b	5.10 ±0.02 ^c	5.07 ± 0.01 ^c	5.02 ± 0.15 ^d

Các ký tự in thường a, b, c, d, e khác nhau trong cùng một hàng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0.05$;

Các thông số màu sắc L*, a*, b* giữa các vật liệu và chế phẩm vi bao cũng có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0.05$). Sau khi sấy phun, các chế phẩm vi bao có chỉ số độ sáng L* đều giảm và chỉ số a*, b* thay đổi mạnh do dịch chiết vỏ măng cầu ta được hòa tan và trộn lẫn với vật liệu vi bao. Sự thay đổi màu sắc phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nồng độ, màu sắc ban đầu của dịch chiết, tỷ lệ vật liệu vi bao/ dịch chiết. Ngoài ra, màu sắc còn ảnh hưởng nhiệt độ sấy phun, tốc độ dòng khí và lưu lượng nhập liệu [31]. Ở nhiệt độ cao, một số polyphenol bị mất đi, polyphenol còn lại trong mẫu như tannins có khả năng kết hợp với các ion kim loại tạo thành phức chất có màu sẫm hoặc cũng có thể do sản phẩm sau khi sấy phun có kích thước hạt nhỏ, diện tích tiếp xúc lớn nên dễ bị oxy hóa [24].

3.3 Độ ẩm, TPC và TEAC của chế phẩm sấy phun

Bảng 4 cho thấy hàm ẩm của chế phẩm sấy phun giảm rõ rệt so với nguyên liệu ban đầu, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$). Trong quá trình sấy phun, độ ẩm giảm mạnh có thể do bản chất của vật liệu vi bao, nồng độ vật liệu vi bao càng cao thì độ ẩm càng giảm, kết quả nghiên cứu cũng phù hợp nghiên cứu của Kha và cộng sự (2010) [30] khi sấy bột gấc với nồng độ chất mang từ 10 -20% thì độ ẩm giảm từ 4.87 đến 4.06%. Nhiệt độ sấy đầu vào cao sẽ truyền nhiệt cho các hạt tốt hơn, tạo động lực lớn cho quá thoát ẩm của các hạt [31]. Sản phẩm vi bao đạt độ ẩm khá thấp từ 3.03 đến 3.69% tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình bảo quản tránh hư hỏng do vi sinh vật.

Bảng 4. Độ ẩm, TPC, TEAC và hiệu suất thu hồi của chế phẩm sấy phun

Mẫu	Độ ẩm (%)	TPC (mg GAE/ g CK)	TEAC (μmol TE/g DW)	
			DPPH	ABTS
Cao chiết	-	95.42 ± 0.99 ^a	626.23 ± 2.00 ^a	1329.61 ± 10.54 ^a
MD	3.90±0.02 ^a	-	-	-
MD10%	3.69±0.01 ^b	44.62±0.20 ^b	244.98±1.01 ^b	551.54±2.50 ^b
MD12%	3.62±0.05 ^c	46.47±0.45 ^c	253.32±2.52 ^c	578.96±6.07 ^c
MD14%	3.51±0.06 ^d	43.22±0.30 ^d	231.17±1.70 ^d	531.87±3.85 ^d
MD16%	3.03±0.07 ^e	41.47±0.31 ^e	222.41±1.72 ^e	515.16±12.24 ^e

Nhiệt độ sấy phun khá cao là một nhược điểm của sấy phun vì ảnh hưởng lớn TPC, TEAC của bột sấy phun. So với dịch chiết ban đầu có hàm lượng TPC 95.420 ± 0.99 mgGAE/gDW và TEAC là 626.235 ± 2.00 $\mu\text{mol TE/g DW}$, theo DPPH), 1329.610 ± 10.54 ($\mu\text{mol TE/g DW}$, theo ABTS), chế phẩm sấy phun với nồng độ maltodextrin khác nhau, hàm lượng TPC giữ được từ 43.46 % đến 48.7%, TEAC còn 35.51% đến 40.45% (theo DPPH) và từ 38.74% đến 43.54% (theo ABTS) so với dịch chiết ban đầu. Trong điều kiện khảo sát vi bao bằng phương pháp sấy phun, mẫu MD12% (nồng độ 12%) ít bị tổn thất nhất, với hàm lượng TPC 46.47 ± 0.45 (mg GAE/g CK) và hoạt tính kháng oxy hóa 253.32 ± 2.52 $\mu\text{mol TE/g DW}$ (theo DPPH) và 578.96 ± 6.07 $\mu\text{mol TE/g DW}$ (theo ABTS). Chọn mẫu MD12% đánh giá hoạt tính kháng khuẩn.

3.4 Định tính một số hợp chất có hoạt tính sinh học và đánh giá khả năng kháng khuẩn của chế phẩm sấy phun vỏ măng cầu ta

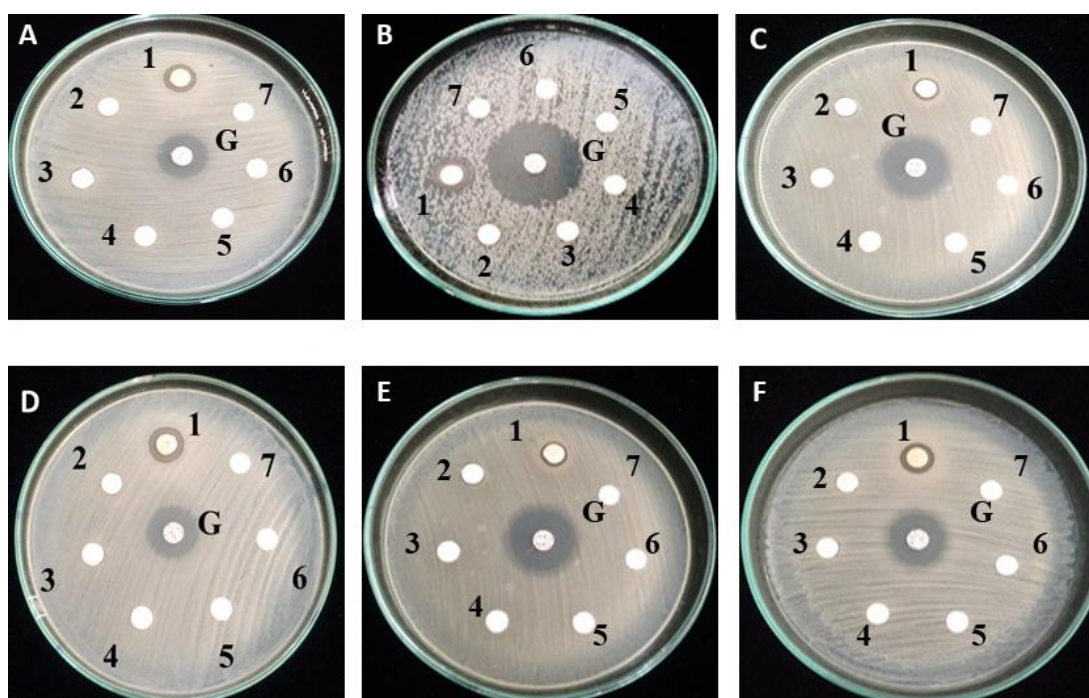
Bảng 5. Cho thấy sấy phun ở nhiệt độ khá cao nhưng chế phẩm vi bao vẫn giữ được một số chất có hoạt tính sinh học như trong dịch chiết ví dụ tannins, saponins, steroids, terpenoids, coumarins [5].

Bảng 5. Định tính một số hợp chất có hoạt tính sinh học có trong dịch chiết vỏ AS

Stt	Loại hợp chất	Dịch chiết
1	Tanins	+
2	Saponin	+
3	Steroid	+
4	Terpenoid	+
5	Anthoxyanin	-
6	Leucoanthoxyanin	-
7	Coumarin	+
8	Emodin	-

Ghi chú: (+) có nhiều, (-) không có

Khả năng kháng khuẩn của chế phẩm sấy phun (MD12%) được xác định dựa trên khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra trên đĩa petri (Hình 1). Hoạt tính kháng vi sinh vật của chế phẩm sấy phun (MD12%) được khảo sát ở nồng độ khác nhau (50, 100, 200, 400, 800 mg/mL) với sáu chủng vi khuẩn *S. aureus*, *B. cereus*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *Shigella* sp. và *Listeria* sp.



Hình 1. Kết quả kháng khuẩn bột sấy phun dịch chiết vỏ măng cầu ta

Chú thích: A: *S. aureus*; B: *B. cereus*; C: *Listeria* sp; D: *Shigella* sp; E: *E. coli*; F: *S. typhimurium*; G: gentamycine. Các số 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 tương ứng với nồng độ (mg/mL) 800, 400, 200, 100, 50, maltodextrin, DMSO 5%.

DMSO là dung môi có khả năng hòa tan các hợp chất phân cực và không phân cực ở nồng độ 5%, các mẫu đối chứng âm không xuất hiện vòng kháng khuẩn. Okeke và cộng sự (2001) [32] đã sử dụng DMSO làm đối chứng âm và dung môi (nồng độ 5%) để hòa tan cao chiết từ ethanol và nước từ rễ cây *Landolphia owerrience* để đánh giá kháng khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* và *Bacillus subtilis* cũng không ảnh hưởng kết quả kháng khuẩn và hiệu quả kháng khuẩn của cao chiết.

Gentamycin làm đối chứng dương thể hiện rõ rệt tính kháng khuẩn đối với 6 chủng nghiên cứu. Với nồng độ 10µg/đĩa nhưng khả năng kháng mỗi chủng vi khuẩn lại khác nhau, sự nhạy cảm của vi khuẩn với chứng dương được thể hiện như sau:

S. aureus < *S. typhimurium* < *Shigella* sp. < *Listeria* sp. < *E. coli* < *B. cereus*

Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê $p < 0.05$ (Bảng 6). Gentamycin là hợp chất thuộc nhóm aminoglycosides, có khả năng kháng khuẩn cao là nhờ vào sự ức chế tổng hợp protein và phá vỡ toàn bộ màng tế bào vi khuẩn. Quá trình này bao gồm việc khuếch tán qua màng ngoài và hấp thụ tế bào chất, sau đó, Gentamycin sẽ di chuyển nhanh chóng để gắn kết ribosom của vi khuẩn, ức chế tổng hợp protein, làm giảm độ chính xác của các RNA thông tin, dẫn đến kết hợp sai các acid amin trong chuỗi polypeptid của vi khuẩn [33].

Bảng 6. Đường kính vòng kháng khuẩn của chế phẩm sấy phun (MD12%) từ vỏ quả măng cầu ta

Nồng độ chất kháng (mg/mL)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Listeria</i> sp	<i>Shigella</i> sp	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
800	9.32±0.08 ^{Aa}	13.60±0.01 ^{Ab}	8.04±0.06 ^{Ac}	11.30±0.02 ^{Ad}	8.84±0.48 ^{Ae}	9.88±0.03 ^{Af}
400	-	ức chế	7.14±0.02 ^{Ba}	-	6.78±0.01 ^{Bb}	-
200	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-
Đối chứng âm	-	-	-	-	-	-
DMSO5%	-	-	-	-	-	-
Gentamycin 10µg/đĩa	17.46 ±0.04 ^{Ba}	25.26±0.09 ^{Bb}	19.07±0.10 ^{Cc}	18.72±0.04 ^{Bd}	19.84±0.05 ^{Ce}	18.24±0.02 ^{Bf}

Các giá trị cùng một cột có ký tự in hoa khác nhau thì có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0.05$

Các giá trị cùng một hàng có ký tự in thường khác nhau thì có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0.05$

Chú thích: -: không kháng khuẩn;

Dựa vào kết quả Bảng 6 và Hình 1 có thể thấy nồng độ polyphenol càng cao thì vòng kháng khuẩn càng lớn và phụ thuộc vào chủng vi sinh vật. Cùng nồng độ chất kháng khuẩn 800 mg/mL, đường kính vòng kháng khuẩn giữa các chủng vi khuẩn khác nhau có ý nghĩa trong thống kê ($p < 0.05$) như *S. aureus* là 9.32±0.08 mm, *B. cereus* là 13.60±0.01 mm, *E. coli* là 8.84±0.48 mm ... và khi nồng độ chất kháng tăng từ 400 -800 (mg/mL) thì đường kính vòng kháng khuẩn của *Listeria* sp. tăng từ 7.14±0.02 đến 8.04±0.06 (mm) nhưng không kháng khi nồng độ chất kháng nhỏ hơn 200 mg/mL

Khả năng kháng khuẩn của bột sấy phun dịch chiết vỏ quả măng cầu ta có thể là do các hợp chất sinh học như: tannins, saponins, steroids, terpenoids, coumarins tạo ra. Tannins đã được chứng minh là độc hại đối với nấm sợi, nấm men và vi khuẩn do liên kết với thành tế bào của vi khuẩn, gây ra ứ đọng enzyme protease và ức chế hoạt động của vi khuẩn [34]

Sự có mặt của saponins ức chế sự phát triển vi khuẩn đặc biệt ức chế tốt vi khuẩn gram dương hơn vi khuẩn gram âm và nấm; do phá hủy màng tế bào, gây rò rỉ vật chất bên trong tế bào, giảm hiệu quả sử dụng đường của vi sinh vật nên ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật [34]

Coumarins có khả năng kháng lại nhiều chủng vi khuẩn như *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*... là nhờ vào sự ức chế một số DNA của vi khuẩn [35]. Một trong những enzyme mà coumarins ức chế là DNA gyrase

của vi khuẩn. Cụ thể, các coumarins ngăn cản hoạt động trong quá trình sao chép DNA, xúc tác quá trình thủy phân ATP liên quan đến phản ứng enzyme [36].

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là nồng độ cao chiết (hoặc kháng sinh) thấp nhất mà tại đó xuất hiện vòng vô khuẩn; nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao. Chế phẩm sấy phun với maltodextrin nồng độ 12% đều kháng được sáu chủng vi khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và vòng kháng khuẩn của mỗi chủng khác nhau, với MIC 800mg/mL: *S. aureus* (9.32±0.08 mm), *B. cereus* (13.60±0.01mm), *Shigella* sp (11.30±0.02 mm), *S. typhimurium* (9.88±0.03mm) và MIC 400 mg/mL: *Listeria* sp.(7.14±0.02mm), *E. coli* (6.78±0.01mm). Tuy nhiên, chế phẩm sấy phun trong nghiên cứu có nồng độ ức chế tối thiểu cao hơn nồng độ ức chế tối thiểu của cao chiết hà thủ ô trắng với *S. aureus* và *E. Coli* (MIC 16µg/mL) [37] có thể khi sấy phun ở nhiệt độ cao hàm polyphenol và hoạt tính kháng khuẩn giảm.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định với nồng độ chất mang maltodextrin 12% có thể vi bao tốt các hợp chất polyphenol có trong dịch chiết vỏ măng cầu với hàm lượng TPC 46.47±0.45 mg GAE/g CK, hoạt tính kháng oxy hóa 253.32 ± 2.52 µmol TE/g CK (theo DPPH), 578.96 ± 6.07µmol TE/g CK (Theo ABTS). Ngoài ra, chế phẩm sấy phun nghiên cứu cũng kháng được với 6 chủng vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm như *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. và *Listeria* sp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự hỗ trợ về kinh phí của Trường Đại học Công nghiệp Tp. Hồ Chí Minh theo đề tài nghiên cứu cơ sở năm 2019 (mã 194.TTP01).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aastha Bhardwaj, Gouri Satpathy, Rajinder Kumar Gupta (2014), *Preliminary screening of nutraceutical potential of Annona squamosa, an underutilized exotic fruit of India and its use as a valuable source in functional foods Preliminary screening of nutraceutical potential of Annona squamosa, an underutilized exotic*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 3 (2): 172-180
2. Sunil Pareek, Sunil, Yahia, Elhadi M., Pareek, O. P. *Postharvest physiology and technology of Annona fruits*. Food Research International 44 (2011) 1741–1751 Contents
3. Morton, J.F. *Fruits of warm climates*. In: J.F. Morton (ed.), Sugar Apple, Miami, Florida, USA, 1987, pp. 69–72.
4. Yadav, D.K., (2011). *Anti-ulcer constituents of Annona squamosa twigs*. Fitoterapia, 82(4), 666-675.
5. Nandhakumar, E., & Indumathi, P. (2013). *In vitro antioxidant activities of methanol and aqueous extract of annona squamosa (L.) fruit pulp*. JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies. <https://doi.org/10.1016/j.jams.2012.09.002>
6. Kim, H., Park, S.W., Park, J.M., Moon, K.H., and Lee, C.K. (1995). *Screening and isolation of antibiotic resistance inhibitors from herb material resistant inhibition of 21 Korean plants*. Natural Product Sciences, 1, 50-54.
7. Sun, L.R., H. Zhu, L.S. Gan, J.X. Mo, F. Feng and C.X. Zhou (2012). *Constituents from the bark of Annona squamosa and their anti-tumor activity*, China J. Chin. Mater. Med, 37: 2100 – 2104
8. Chih, H.W., H.F. Chiu, K.S. Tang, F.R. Chang and Y.C. Wu, Bullatacin. *A potent antitumor annonaceous acetogenin, inhibits proliferation of human hepatocarcinoma cell line 2.2. 15 by apoptosis induction*, Life Sci. 69: 1321 – 1331, 2001.
9. Tormo, J.R., T. Gallardo, R. Aragón, D. Cortes and E. Estornell, *Specific interactions of monotetrahydrofuranic annonaceous acetogenins as inhibitors of mitochondrial complex I*, Chem. Biol. Interact. 122: 171 – 183, 1999
10. Pandey NBarve D, *Phytochemical and pharmacological review on Annona squamosa Linn*. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences (2011) 2(4) 1404-1412
11. Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2012). *Microencapsulation of Morinda citrifolia L. extract by spray-drying*. Chemical Engineering Research and Design, 90(5), 622–632.

12. Mishra, P., Mishra, S., & Mahanta, C. L. (2014). *Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amLa (Emblca officinalis) juice powder*. Food and Bioproducts Processing, 92(3), 252-258
13. Quoc, L. P. T., & Van Muoi, N. *Physicochemical properties of polygonum multiflorum thunb. Root powder produced with different carrier agents*. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 2018. 24(2), 93–100. <https://doi.org/10.2298/CICEQ170329021Q>
14. Duangmal, K., Saicheua, B., & Sueprasan, S. (2008). *Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink*. LWT-Food Science and Technology, 41(8), 1437-1445.
15. Goula, A.M., Adamopoulous, K.G., Kazakis, N.A., 2004. *Influence of spray drying conditions on tomato powder properties*. Drying Technol. 22 (5), 1129–1151.
16. Cai, Y.Z., Corke, H., (2000). *Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments*. Journal of Food Science 65(7), 1248-1252.
17. Anderson, R.A., Conway, H.F., Pfeifer, V.F., Griffin, E.L., (1969). *Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking*. Cereal Science 14, 4–7.
18. Umesh b. Jagtap and Vishwas a. Bapat, *Phenolic composition and antioxidant capacity of wine prepared from custard apple (Annona squamosa L.) Fruits*. Journal of Food Processing and Preservation 2015
19. Soto, C., Caballero, E., Pérez, E. and Zúñiga, M.E. *Effect of extraction conditions on total phenolic content and antioxidant capacity of pretreated wild Peumus boldus leaves from Chile*. Food and Bioproducts Processing, 2014, 92(3): 328–333.
20. Chmelová, D., Ondrejovič, M., Havrlentová, M. and Hozlár, P. *Antioxidant activity in naked and hulled oat (Avena Sativa L.) varieties*. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2015, 4(3): 63-65
21. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. Free Radical Biology and Medicine 26 (9-10): 1231-1237.
22. Evans, W. C. (2002). *Trease and Evans Pharmacognosy, 15th edition*. W.B Saunders Company Ltd. London. 585 pp.
23. Quoc LPT, Van Muoi N. *Phytochemical screening and antimicrobial activity of polyphenols extract from Polygonum multiflorum Thunb. root*. Carpathian J Food Sci Technol. 2018;10(4):137-148.
24. Tonon V.R, C. Brabet, D. Pallet, P. Brat , D. M Hubinger, 2009. *Physicochemical and morphological characterisation of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced with different carrier agents*. International Journal of Food Science and Technology, 44, 1950 -1958
25. Kurozawa, Louise Emy, Alexandre Gomes Morassi, Analia Aparecida Vanzo, Kil Jin Park and Miriam Dupas Hubinger. (2009). *"Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder."* Drying Technology, 11, 1248-1257.
26. Rajabi H, Ghorbani M, Jafari SM, Sadeghi Mahoonak A, Rajabzadeh G. *Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials*. Food Hydrocoll. 2015;51:327-337. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.05.033
27. Vega C, Roos YH. 2006. *Spray-dried dairy and dairy-like emulsions—compositional onsiderations*. J Dairy Sci, 89, 383–401.
28. Bae, E. K., & Lee, S. J. (2008). *Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin*. Journal of Microencapsulation, 25(8), 549-560.
29. Sousa, A. S. D., Borges, S. V., Magalhães, N. F., Ricardo, H. V., & Azevedo, A. D. (2008). *Spray-dried tomato powder: reconstitution properties and colour*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 51(4), 607-614.
30. Kha, T.C., Nguyen, M.H., Roach, P.D., 2010. *Effect of spray-drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (Momordica cochinchinensis) fruit aril powder*. Journal of Food Engineering, 98 (3), 385–392.
31. Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). *Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil*. Carbohydrate polymers, 101, 524-532.

32. Okeke, M. I., Iroegbu, C. U., Eze, E. N., Okoli, A. S., & Esimone, C. O. (2001). *Evaluation of extracts of the root of Landolphia owerrience for antibacterial activity*. Journal of ethnopharmacology, 78(2-3), 119-127.
33. Zembower, T.R., Noskin, G.A., Postelnick, M.J., Nguyen, C. and Peterson, L.R. (1998). *The utility of aminoglycosides in an era of emerging drug resistance*, International Journal of Antimicrobial Agents, 10: 95-105.
34. Omojate Godstime, C., et al., *Mechanisms of antimicrobial actions of phytochemicals against enteric pathogens—a review*. J Pharm Chem Biol Sci, 2014. 2(2): p. 77-85.
35. Parker, J. (2001). *Antibiotic -Resistance Mutant*. Encyclopedia of Genetics, 76-78.
36. Lee, S., Shin, D. S., Kim, J. S., Oh, K. B., & Kang, S. S. (2003). *Antibacterial coumarins from Angelica gigas roots*. Archives of pharmacal research, 26(6), 449-452.
37. Đái Thị Xuân Trang, Lâm Hồng Bảo Ngọc và Võ Thị Tú Anh (2015). *Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây hà thủ ô trắng (streptocaulon juvenas merr.* Tạp chí Y học Trường Đại học Cần Thơ.

Ngày nhận bài: 13/08/2020

Ngày chấp nhận đăng: 16/11/2020