

Khảo sát ảnh hưởng của Cu^{2+} trong việc giữ màu xanh của nectar chùm ngây**Research the effect of Cu^{2+} on keeping the green color of moringa nectar**Nhu Xuân Thiện Chân^{1*}¹Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: chan.nxt@ou.edu.vn

THÔNG TIN**TÓM TẮT**

DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.18.2.568.2023

Ngày nhận: 29/06/2020

Ngày nhận lại: 02/07/2023

Duyệt đăng: 14/07/2023

Khi nghiên cứu sản xuất nước uống dinh dưỡng từ lá chùm ngây, việc thu dịch ban đầu là một giai đoạn quan trọng, vừa đảm bảo dinh dưỡng vừa giữ được giá trị cảm quan cho sản phẩm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng ion kim loại đồng (Cu^{2+}) trong các khảo sát khác nhau từ chần đến ngâm, kết hợp với điều chỉnh pH nhằm giữ màu xanh đặc trưng của chlorophyll cho sản phẩm nectar chùm ngây. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc chần lá chùm ngây trong dung dịch NaOH 0.056% trong thời gian 2 phút ở 100°C rồi ngâm 105 phút trong dung dịch Cu^{2+} 27ppm sẽ cho sản phẩm có màu xanh lá cây sáng, bền màu khi gia nhiệt và khi bảo quản qua thời gian.

*Từ khóa:*bền màu; chùm ngây; Cu^{2+}
Chlorophyll*Keywords:*colour stable; moringa; Cu^{2+}
Chlorophyll**ABSTRACT**

In the Moringa nutritious beverage processing research, receiving pre-nectar is the important stage in maintaining not only nutrition but also sensory qualities. In this research, we study several uses of copper ions, from blanching to dipping, combined with changing pH to maintain the specific colour of Chlorophyll for moringa nectar products. The research shows that blanching moringa leaves in water with NaOH 0.056% in 2 minutes at 100°C, then dipping in Cu^{2+} 27ppm solution gives a bright green stable colour product during heating and storage.

1. Tổng quan

Cây chùm ngây, có tên khoa học là *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) là một cây nhiệt đới quan trọng đa năng có giá trị cao, được công nhận về dinh dưỡng và dược liệu. Các thành phần này thay đổi tùy theo mùa, thổ nhưỡng, đặc tính và từng bộ phận của cây: rễ, thân, lá, hoa, ... nhưng nhìn chung, thành phần hóa học (khối lượng khô) dao động từ 19.34% đến 22.42% protein, 1.28% đến 4.96% chất béo, 7.62% đến 14.60% tro, và 30.97% đến 46.78% chất xơ (Sánchez-Machado, Núñez-Gastélum, Reyes-Moreno, Ramírez-Wong, & López-Cervantes, 2009). Các khoáng chất như kali, phospho, sắt, kẽm và calci cũng tồn tại ở nồng độ đáng kể với giá trị trung bình 3.08 mg Fe/100g và 792.8mg calci/100g (Abuye, 2003).

Lá chùm ngây rất giàu chất dinh dưỡng và chứa vitamin A, C, và E, được sử dụng dưới dạng bột nghiền bổ sung vào thức ăn để nâng cao giá trị dinh dưỡng trong khẩu phần cho phụ nữ mang thai, các bà mẹ cho con bú, và đặc biệt cho trẻ em bị suy dinh dưỡng (Lockett, Calvert, & Grivetti, 2000; McBurney, Griffin, Paul, & Greenberg, 2004). Khi được so sánh, thành phần

vitamin trong chùm ngây có chứa nhiều vitamin A như cà rốt, vitamin C như cam và vitamin E như lựu. Ngoài ra, lá còn có các chất có hoạt tính sinh học carotenoid, tocopherols và vitamin C ngăn ngừa sự các phản ứng oxy hóa (Smolin, & Grosvenor, 2015).

Lá Moringa còn là một nguồn dinh dưỡng tốt và hữu cơ tự nhiên bổ sung sức khỏe có thể được sử dụng trong nhiều cách điều trị (DanMalam, Abubakar, & Katsayal, 2001; Fahey, 2005; McBurney & ctg., 2004). Lá chùm ngây có thể được ăn tươi, nấu chín, hoặc được bảo quản dưới dạng bột khô trong nhiều tháng mà không có bất kỳ sự mất mát về giá trị dinh dưỡng (Arabshahid, Devi, & Urooj, 2007; Fahey, 2005). Lá khô hoặc tươi được sử dụng trong thực phẩm như súp và cháo đặc (Lockett & ctg., 2000), cà ri và mì (Abilgos & Barba, 1999). Đặc biệt có thể ứng dụng vào chế biến bánh quy để tăng hàm lượng protein, sắt, canxi, β -carotene và chất xơ, với lượng bổ sung lá chùm ngây sấy khô ngày càng tăng, từ 0 - 15% cho thấy khả năng sử dụng lá chùm ngây để cải thiện các đặc tính dinh dưỡng của bánh bích quy (Dachana, Rajiv, Indrani, & Prakash, 2010).

Do giá trị dinh dưỡng và dược tính lớn, cây chùm ngây đã bắt đầu được trồng nhiều tại các địa phương ở nước ta, với sự đóng góp hạt giống từ nhiều nguồn hảo tâm trong nước. Nhìn chung, giá trị của chùm ngây, đặc biệt là giá trị dinh dưỡng đã được người dân Việt Nam biết đến; một số địa phương, công ty cũng đã triển khai trồng thu lá, bán dưới dạng tươi hoặc sấy. Tuy nhiên, trong lĩnh vực công nghệ thực phẩm, các sản phẩm chế biến từ chùm ngây vẫn còn rất nghèo nàn, chủ yếu vẫn là lá chùm ngây sấy khô và chưa có một chương trình, chiến lược cụ thể. Do đó, chúng tôi đã thực hiện đề tài nghiên cứu sản xuất thử nước uống dinh dưỡng từ lá chùm ngây nhằm đem đến cho cộng đồng một sản phẩm giàu dinh dưỡng, có giá trị cảm quan cao, dễ sử dụng từ loại cây thân kỳ này.

Chlorophyll là một sắc tố màu lục ở thực vật, được tìm thấy khắp nơi trong các bộ phận ăn được của rau quả, nhưng chủ yếu tập trung ở lá. Chlorophyll xúc tác cho phản ứng quang hóa sinh tổng hợp glucose từ CO_2 và H_2O . Chlorophyll thường có khả năng che khuất các màu khác khiến cho lá cây có màu xanh đặc trưng.

Chlorophyll là hợp chất của porphyrin gồm 04 vòng pyrol. Các vòng này phối trí với ion Mg^{2+} . Tại pyrol thứ 4, acid propionic liên kết với vòng pyrol và liên kết ester với phân tử rượu phytol. Cấu tạo này giống với cấu tạo nhóm hemichromes của hồng cầu nhưng khác ở nguyên tử trung tâm của hemichromes là Fe. Như vậy nguyên tử kim loại trung tâm có vai trò quyết định trong sự tạo màu của hợp chất. Trong thành phần của cây, chlorophyll có tổ chức đặc biệt, phân tán trong nguyên sinh chất gọi là lục lạp hoặc hạt diệp lục. Hạt diệp lục có 02 lớp màng thylakoid, trên 02 màng này là chlorophyll liên kết với protein.

Trong sản xuất các sản phẩm thực phẩm từ rau, màu xanh thường không bền và biến màu khi chế biến. Khi chế biến, nhất là khi xử lý nhiệt, chlorophyll chịu tác động bởi một số yếu tố dẫn đến thay đổi màu sắc. Dưới tác dụng nhiệt độ và acid, vỏ tế bào bị phân hủy, liên kết giữa chlorophyll và protein bị cắt đứt giúp giải phóng chlorophyll ra khỏi tế bào. Sau đó chlorophyll phản ứng tiếp với acid tạo pheophytin có màu oliu sẫm. Với các chất kiềm nhẹ như carbonate, kiềm thổ thì môi trường acid sẽ bị trung hòa, khiến cho chlorophyll bị xà phòng hóa tạo nên sản phẩm Chlorophyllin có màu xanh đậm. Chlorophyll cũng có thể bị oxy hóa do oxy và ánh sáng (quang oxy hóa), tiếp xúc với các lipid bị oxy hóa, hay tác dụng của enzyme lipoxydase. Dưới tác dụng của một số kim loại như Fe, Sn, Al, Cu thì Mg trong chlorophyll sẽ bị thay thế và sẽ cho các màu sau: Fe cho màu nâu, Sn và Al cho màu xám, Cu cho màu xanh sáng (Le, 2002).

Trong sản xuất thực phẩm để giữ màu xanh Chlorophyll ta có thể thực hiện bằng cách:

- Gia nhiệt nhanh trong lượng nước lớn, khiến cho các acid mạch ngắn dễ bị bay hơi.
- Tăng pH giúp giữ màu xanh chlorophyll tốt hơn.
- Dùng dinatri glutamat hoặc chlorophilin để trung hòa.
- Sử dụng kim loại Zn, Cu để tạo phức với chlorophyll.

Trong sản xuất nước uống dinh dưỡng chùm ngây thì hai giai đoạn đặc biệt quan trọng ảnh hưởng đến màu sắc của chlorophyll là giai đoạn chần và quá trình thanh trùng. Trong đề tài nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát việc giữ màu trong giai đoạn đầu - tức giai đoạn chần, nhằm giúp sản phẩm có thể ổn định màu ngay cả khi thanh trùng và bảo ôn sau này.

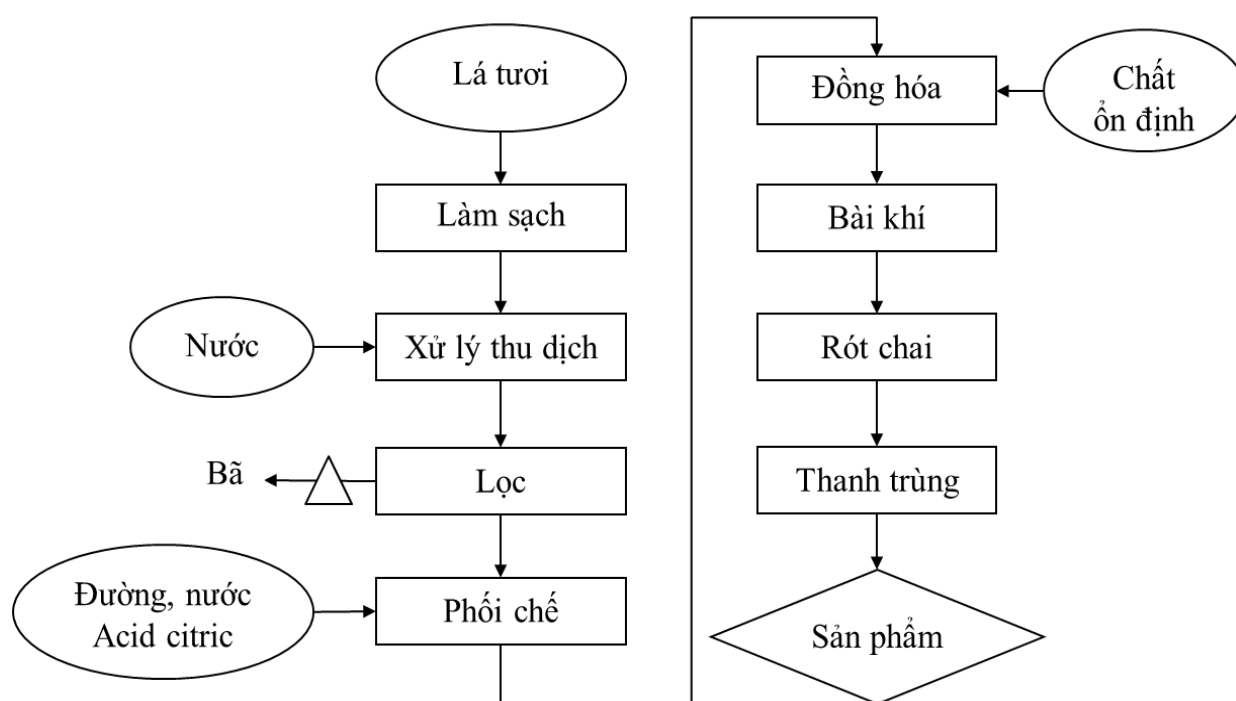
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

- Lá chùm ngây tươi: được mua từ công ty TNHH Lê Hoàng, phường 12, Quận Tân Bình.
- Lá chùm ngây thương phẩm là lá trưởng thành, kích thước đồng đều, đường kính khoảng 2.5cm. Nguyên liệu được mua mới cho mỗi thí nghiệm, hạn chế nguyên liệu dư. Nguyên liệu dư bảo quản trong tủ mát 15°C trong vòng 03 ngày, nếu không dùng sẽ hủy mẫu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Quy trình sản xuất thức uống dinh dưỡng từ chùm ngây như sau:



Hình 1. Quy trình công nghệ thực tế nghiên cứu sản xuất thử nectar chùm ngây

Theo quy trình công nghệ nêu trên, việc xử lý giúp giữ màu xanh tự nhiên của sản phẩm sẽ tập trung vào hai quá trình xử lý thu dịch và thanh trùng sản phẩm.

Trong phạm vi của bài nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát phương pháp tăng độ bền màu của dịch chùm ngây ngay tại khâu xử lý thu dịch trước khi phối chế.

Mục tiêu của công đoạn này là thu được dịch chum ngây có giá trị cảm quan cao về màu, mùi, vị đồng thời có hiệu suất thu hồi dịch cao. Sau khi thí nghiệm sơ bộ các biện pháp xử lý như chần, sử dụng enzyme, lạnh đông chậm, chúng tôi nhận thấy chỉ có biện pháp chần giúp làm giảm mùi hăng của lá sống cũng như không tạo ra mùi khó chịu. Vì vậy, chúng tôi tập trung khảo sát biện pháp chần, có kết hợp với các điều kiện đặc thù giúp bảo vệ màu xanh của lá chum ngây.

Đầu tiên chúng tôi tiến hành khảo sát quá trình chần căn bản, chưa có sự hỗ trợ của các biện pháp đặc thù. Quá trình này nhằm xác định thời gian và nhiệt độ tối ưu cho quá trình chần mà ở đó mối tương quan giữa các giá trị cảm quan, đặc biệt là cảm quan màu và hiệu suất thu hồi dịch là tốt nhất.

Kết quả quá trình chần căn bản này tiếp tục làm cơ sở cho các khảo sát nâng cao có sử dụng ion kim loại đồng (Cu^{2+}), bao gồm: chần có bổ sung Cu^{2+} , chần trong NaOH rồi ngâm trong dung dịch Cu^{2+} , chần rồi ngâm trong dung dịch Cu^{2+} có bổ sung acid citric với mục tiêu là giữ được màu cho dịch quả và màu được giữ có giá trị cảm quan cao.

Việc tiến hành các bố trí thí nghiệm trong bài báo được tuân theo các phương pháp quy hoạch thực nghiệm mà chúng tôi đúc kết trong hai cuốn sách: cuốn *Quy hoạch thực nghiệm* của C. Nguyen (2001) (Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh - 2001) và cuốn *Quy hoạch và phân tích thực nghiệm* của L. H. Nguyen (2001) (Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh - 2001).

2.2.1. Thí nghiệm 1 - Xác định thời gian và nhiệt độ chần tối ưu

Mục đích: Xác định thời gian và nhiệt độ tối ưu cho quá trình chần sao cho mối tương quan giữa các giá trị cảm quan, đặc biệt là cảm quan màu và hiệu suất thu hồi dịch là tốt nhất.

Bố trí thí nghiệm:

Tiến hành bố trí thí nghiệm bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp 1, yếu tố toàn phần 02 mức, 02 yếu tố ảnh hưởng.

Chọn các yếu tố ảnh hưởng: Z_1 - nhiệt độ chần ($^{\circ}\text{C}$); Z_2 - thời gian chần (phút) theo bảng điều kiện thí nghiệm sau:

Bảng 1

Điều kiện thí nghiệm chần theo nhiệt độ và thời gian

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng	
	Z_1 : Nhiệt độ chần, $^{\circ}\text{C}$	Z_2 : Thời gian chần, phút
Mức trên (+1)	100	7
Mức cơ sở (0)	85	4
Mức dưới (-1)	70	1
Khoảng biến thiên	15	3

Mỗi mẫu thí nghiệm gồm 20gr lá chum ngây tươi, được tiến hành chần, sau đó nghiền ép thu dịch (có bổ sung thêm nước tỷ lệ 1:1).

Chọn các hàm mục tiêu:

Y_1 - Hiệu suất thu hồi chất khô (%) ($Y_1 \rightarrow \text{Max}$).

Y_2 - Đánh giá cảm quan màu ($Y_2 \rightarrow \text{Max}$).

Y_3 - Đánh giá cảm quan mùi ($Y_3 \rightarrow \text{Max}$).

Tiến hành đánh giá các mẫu theo các hàm mục tiêu, xử lý số liệu theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm rồi tối ưu hóa hàm mục tiêu bằng phương pháp chập tuyến tính.

Kết quả của thí nghiệm 1 sẽ làm cơ sở cho thí nghiệm 2, 3, 4 với mục tiêu là giúp giữ màu và bền màu cho dịch quả. Khi này, các thí nghiệm 2, 3, 4 sẽ chần với nhiệt độ tối ưu và thời gian tối ưu từ thí nghiệm 1, riêng thí nghiệm 2 sử dụng nhiệt độ chần tối ưu từ thí nghiệm 1, còn thời gian lấy thời gian chần tối ưu của thí nghiệm 1 làm cận dưới, và kéo dài thời gian để ion Cu^{2+} có thể tương tác hiệu quả với nguyên liệu. Vì thế, các thí nghiệm 2, 3, 4 chúng tôi sẽ không khảo sát hiệu suất thu hồi chất khô, hay cảm quan mùi vốn đã được giải quyết tốt ở thí nghiệm 1 mà tập trung vào việc đánh giá độ bền màu và cảm quan màu sắc đạt được (vốn khác nhau) từ các thí nghiệm đúng với mục tiêu đưa ra trong bài báo. Mục tiêu của bài báo cũng chính là so sánh ba thí nghiệm 2, 3, 4 này về màu sắc thu được và độ bền màu.

2.2.2. *Thí nghiệm 2 - Xác định khả năng giữ màu của nectar chùm ngây khi chần có bổ sung ion kim loại Cu^{2+}*

Mục đích: Xác định màu thu được về giá trị cảm quan và độ bền màu.

Bố trí thí nghiệm:

Tiến hành bố trí thí nghiệm bằng phương pháp qui hoạch thực nghiệm trực giao cấp I, yếu tố toàn phần 02 mức, 02 yếu tố ảnh hưởng.

Chọn các yếu tố ảnh hưởng: K_1 - Thời gian chần (phút); K_2 - Nồng độ ion Cu^{2+} (ppm) theo bảng điều kiện thí nghiệm sau:

Bảng 2

Điều kiện thí nghiệm chần trong dung dịch Cu^{2+}

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng	
	K_1 : Thời gian chần, phút	K_2 : Nồng độ Cu^{2+} , ppm
Mức trên (+1)	5	30
Mức cơ sở (0)	3	20
Mức dưới (-1)	1	10
Khoảng biến thiên	2	10

Mỗi mẫu thí nghiệm gồm 20gr lá chùm ngây tươi, được tiến hành chần ở nhiệt độ tối ưu theo thí nghiệm 1. Sau khi chần sẽ rửa lại bằng nước lạnh 5°C , sau đó nghiền ép thu dịch (có bổ sung thêm nước tỷ lệ 1:1).

Chọn hàm mục tiêu: Y - Độ hấp phụ OD. (Y hội tụ đến một giá trị Y_{opt}).

Tiến hành đo độ hấp phụ OD (Y) của các mẫu, xử lý số liệu theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm, tối ưu hóa hàm mục tiêu bằng phương pháp đơn hình đều.

Bên cạnh đó, chúng tôi cũng tiến hành đánh giá cảm quan chỉ tiêu màu của các mẫu (không xử lý quy hoạch thực nghiệm) theo TCVN 5090-90 để có thêm cơ sở lý luận chọn mẫu.

2.2.3. *Thí nghiệm 3 - Xác định khả năng giữ màu của nectar chùm ngây khi chần trong môi trường kiềm, rồi ngâm trong dung dịch Cu²⁺*

Mục đích: Xác định màu thu được về giá trị cảm quan và độ bền màu.

Quá trình chần trong môi trường kiềm vừa giúp khả năng giữ màu Chlorophyll đồng thời nó giúp phá vỡ tế bào trong quá trình chần để các ion kim loại có thể khuếch tán vào trong tạo phức và góp phần giữ màu chlorophyll (Le, 2002; Zeece, 2020).

Do thời gian chần ngắn nên khả năng giữ màu và tạo phức của ion kim loại có thể kém vì thế chúng tôi muốn tiến hành khảo sát việc ngâm với dung dịch ion kim loại tạo phức sau khi chần nhằm góp phần giữ được dinh dưỡng của sản phẩm và giữ được màu xanh cho sản phẩm.

Bố trí thí nghiệm:

Bố trí thí nghiệm bằng phương án quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp I.

Chọn yếu tố ảnh hưởng: L₁: Nồng độ NaOH (%); L₂: Thời gian ngâm (phút); L₃: Nồng độ ion Cu²⁺ (ppm) theo bảng điều kiện thí nghiệm sau:

Bảng 3

Điều kiện thí nghiệm chần trong môi trường kiềm kết hợp ngâm dung dịch Cu²⁺

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng		
	L ₁ : nồng độ NaOH (%)	L ₂ : thời gian ngâm (phút)	L ₃ : nồng độ ion Cu ²⁺ (ppm)
Mức trên (+1)	0.100	120	30
Mức cơ sở (0)	0.075	75	20
Mức dưới (-1)	0.050	30	10
Khoảng biến thiên	0.025	45	10

Mỗi mẫu thí nghiệm gồm 20gr lá chùm ngây tươi, được tiến hành chần ở nhiệt độ và thời gian tối ưu theo thí nghiệm 1. Sau khi chần, mẫu sẽ được rửa lại bằng nước lạnh 5°C, ngâm trong dung dịch Cu²⁺ rồi rửa lại, sau đó nghiền ép thu dịch (có bổ sung thêm nước tỷ lệ 1:1).

Chọn hàm mục tiêu: Y - Độ hấp phụ OD. (Y hội tụ đến một giá trị Yopt)

Tiến hành đo độ hấp phụ OD (Y) của các mẫu, xử lý số liệu theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm, tối ưu hóa hàm mục tiêu bằng phương pháp đơn hình đều.

Bên cạnh đó, chúng tôi cũng tiến hành đánh giá cảm quan chỉ tiêu màu của các mẫu (không xử lý quy hoạch thực nghiệm) theo TCVN 5090-90 để có thêm cơ sở lý luận chọn mẫu.

2.2.4. *Thí nghiệm 4 - Xác định khả năng giữ màu của nectar chùm ngây khi chần cơ bản rồi ngâm trong dung dịch Cu²⁺ có bổ sung acid citric*

Mục đích: Xác định màu thu được về giá trị cảm quan và độ bền màu.

Mặc dù môi trường acid gây ảnh hưởng làm chuyển màu của Chlorophyll sang màu oliu, một số nghiên cứu chỉ ra rằng khi sử dụng acid hữu cơ như acid citric với hàm lượng nhỏ phù hợp,

sẽ giúp phân ly dễ dàng ion Mg^{2+} ra khỏi nhân của Chlorophyll, giúp thuận lợi cho quá trình tạo phức kim loại Cu^{2+} (Kim, 2014; Schunck 1889; Zheng & ctg., 2014). Do đó chúng tôi bố trí thí nghiệm chần cơ bản rồi ngâm trong dung dịch Cu^{2+} có bổ sung acid citric 0.05% và đánh giá thử khả năng giữ màu cũng như độ bền màu.

Bố trí thí nghiệm:

Tiến hành bố trí thí nghiệm bằng phương pháp qui hoạch thực nghiệm trực giao cấp I, yếu tố toàn phần 02 mức, 02 yếu tố ảnh hưởng.

Chọn các yếu tố ảnh hưởng: R₁ - Thời gian ngâm (phút); R₂ - Nồng độ ion Cu^{2+} (ppm) theo bảng điều kiện thí nghiệm sau:

Bảng 4

Điều kiện thí nghiệm chần rồi ngâm trong dung dịch Cu^{2+}

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng	
	R ₁ : Thời gian ngâm (phút)	R ₂ : Nồng độ Cu^{2+} , ppm
Mức trên (+1)	120	30
Mức cơ sở (0)	75	20
Mức dưới (-1)	30	10
Khoảng biến thiên	45	10

Mỗi mẫu thí nghiệm gồm 20gr lá chùm ngây tươi, được tiến hành chần ở nhiệt độ và thời gian tối ưu trong thí nghiệm 1. Sau khi chần, mẫu sẽ được rửa lại bằng nước lạnh 5°C, ngâm trong dung dịch Cu^{2+} rồi rửa lại, sau đó nghiền ép thu dịch (có bổ sung thêm nước tỷ lệ 1:1).

Chọn hàm mục tiêu: Y - Độ hấp phụ OD. (Y_4 hội tụ đến một giá trị Y_{opt}).

Tiến hành đo độ hấp phụ OD (Y) của các mẫu, xử lý số liệu theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm, tối ưu hóa hàm mục tiêu bằng phương pháp đơn hình đều.

Bên cạnh đó, chúng tôi cũng tiến hành đánh giá cảm quan chỉ tiêu màu của các mẫu (không xử lý quy hoạch thực nghiệm) theo TCVN 5090-90 để có thêm cơ sở lý luận chọn mẫu.

2.3. Phương pháp phân tích, đánh giá

2.3.1. Đo độ hấp phụ OD

Trong tự nhiên có rất nhiều chất màu, tương ứng với một giá trị OD riêng đặc trưng. Các sản phẩm nectar rau chủ yếu chứa chất màu Chlorophyll và có giá trị OD trong một khoảng xác định. Có nhiều cách đo và tính toán giá trị Chlorophyll tổng, nhưng đều tiến hành dựa trên việc xác định Chlorophyll có trong nguyên liệu bằng cách trích ly Chlorophyll bằng các dung môi khác nhau và phải đo ở các bước sóng khác nhau.

Trong bài nghiên cứu của chúng tôi, các mẫu là dịch chùm ngây xay nghiền trong nước chứ không phải nguyên liệu cộng với mục đích chính của thí nghiệm là giữ màu xanh, chúng tôi đo OD các mẫu không phải để tính toán Chlorophyll mà để hỗ trợ việc quan sát màu bằng mắt thường.

Do các điều kiện máy móc phòng thí nghiệm, chúng tôi tiến hành đo chỉ số mật độ quang (OD) của mẫu ở bước sóng 680nm sau quá trình xử lý thu dịch để xác định được giá trị tối ưu mà nó xoay quanh từ đó đánh giá hiệu quả của quá trình xử lý thu dịch cũng như đề ra các phương pháp giữ màu tốt nhất.

2.3.2. Xác định hàm lượng chất khô tổng

Bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi.

Hiệu suất thu hồi chất khô: % chất khô thu được so với tổng hàm lượng chất khô tính trên cùng một khối lượng nguyên liệu.

2.3.3. Đánh giá cảm quan mẫu theo TCVN 5090-90

Thành lập hội đồng đánh giá cảm quan gồm 05 thành viên, đều là các thạc sĩ, giảng viên chuyên ngành công nghệ thực phẩm có thâm niên hơn 15 năm.

Tiến hành đánh giá cảm quan cho điểm các chỉ tiêu màu, mùi của mẫu theo tiêu chuẩn TCVN 5090-90, với các bảng chỉ tiêu ở Bảng 5 và Bảng 6.

Bảng 5

Bảng cho điểm chỉ tiêu cảm quan màu

Điểm	Màu
0	Vàng đen, úa, không có màu xanh của lá
1	Vàng oliu sậm
2	Vàng oliu nhạt
3	Xanh lá nhưng hơi khác một chút so với màu đặc trưng của sản phẩm
4	Xanh lá nhạt hơn màu đặc trưng một chút nhưng tươi sáng
5	Xanh lá đậm, đẹp, đặc trưng của lá

Bảng 6

Bảng cho điểm chỉ tiêu cảm quan mùi

Điểm	Mùi
0	Mùi lạ, mùi hư hỏng, khó chịu
1	Không mùi hoặc có mùi nâu
2	Nồng
3	Hơi nồng
4	Thoang thoảng
5	Dịu nhẹ đặc trưng, dễ chịu

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thí nghiệm 1 - Xác định thời gian và nhiệt độ chần tối ưu

Tiến hành thí nghiệm theo phương án quy hoạch trực giao cấp I (TYT 2^k) thực nghiệm yếu tố toàn phần 02 mức, 02 yếu tố ảnh hưởng. Chúng tôi thu được kết quả như sau:

Bảng 7

Kết quả và điều kiện thí nghiệm ma trận của quá trình chân

Số thí nghiệm trong phương án 2 ^k	STT	Biến mã			Hàm mục tiêu		
		x ₁	x ₂	x ₁ x ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃
Số thí nghiệm ở tâm	1	-	-	+	31.689	0.2	2.0
	2	-	+	-	23.059	1.0	3.2
	3	+	-	-	27.255	3,0	3.4
	4	+	+	+	16.368	4.0	4.0
Số thí nghiệm ở tâm	5	0	0	0	18.291	2.0	2.6
	6	0	0	0	20.846	1.6	2.6
	7	0	0	0	19.278	1.8	2.4

Từ đó, chúng tôi thu được phương trình hồi quy của 03 hàm mục tiêu như sau:

$$- \text{Hiệu suất thu hồi chất khô} : \hat{Y}_1 = 24.593 - 2.781x_1 - 4.879x_2 \quad (1)$$

$$- \text{Cảm quan màu dịch chà} : \hat{Y}_2 = 2.05 + 1.45x_1 + 0.45x_2 \quad (2)$$

$$- \text{Cảm quan mùi dịch chà} : \hat{Y}_3 = 3.15 + 0.55x_1 + 0.45x_2 \quad (3)$$

Thực tế không thể có một nghiệm chung để cùng một lúc đạt được Y₁max, Y₂max, Y₃max mà chỉ tìm được nghiệm thỏa hiệp (x₁, x₂) để các giá trị Y₁, Y₂, Y₃ nằm gần Y₁max, Y₂max, Y₃max. Để tìm được nghiệm thỏa hiệp chúng tôi sử dụng phương pháp chấp tuyến tính.

$$Y_L = \alpha_1 Y_1 + \alpha_2 Y_2 + \alpha_3 Y_3 \quad (4)$$

Chọn các thông số α cho phù hợp, viết lại phương trình chung và giải bài toán tối ưu hóa tìm cực trị bằng Solver trong excel để chọn được mẫu tối ưu.

Với mục đích loại bỏ mùi hăng khó chịu của lá sống, thu được dịch lá có cảm quan mùi tốt nhất cũng như giữ được màu xanh của lá, chúng tôi ưu tiên cho cảm quan mùi và cảm quan màu.

Chọn $\alpha_1 = 0.2$; $\alpha_2 = 0.3$; $\alpha_3 = 0.5$

$$\text{Ta viết lại phương trình hàm đa mục tiêu (4): } Y_L = 0.2Y_1 + 0.3Y_2 + 0.5Y_3 \quad (5)$$

$$\rightarrow \text{Phương trình hồi quy: } Y_L = 7.1086 + 0.1538x_1 - 0.6158x_2 \quad (6)$$

Tiến hành tối ưu hóa hàm đa mục tiêu bằng Solver để tìm giải pháp công nghệ thực tiễn phù hợp. Kết quả với x₁ = 1, x₂ = -1, hàm chấp Y_L đạt giá trị cao nhất là 7.8782, tương ứng với nhiệt độ là 100°C và thời gian là 1 phút. Thực tế cho thấy với nhiệt độ và thời gian trên, hàm lượng chất khô thu được cực đại là 27.255 (bằng 86% so với giá trị cao nhất là 31.689), chỉ tiêu màu là 3.0 (bằng 75% so với giá trị cao nhất là 4.0) và chỉ tiêu mùi là 3.4 (bằng 85% so với giá trị cao nhất là 4.0). Tuy đây không phải là hàm lượng chất khô cao nhất, chỉ tiêu màu và chỉ tiêu mùi cao nhất nhưng thỏa mãn được cả 3 hàm mục tiêu được giá trị gần cao nhất.

Do đó, giá trị Z₁ = 100, Z₂ = 1 là phù hợp với thực tế.

Tương ứng với thông số của quá trình chân là **chân ở 100°C trong 1 phút.**

3.2. Thí nghiệm 2 - Xác định khả năng giữ màu của nectar chùm ngây khi chần có bổ sung ion kim loại Cu²⁺

Tiến hành thí nghiệm theo phương án quy hoạch trực giao cấp I (TYT 2^k) thực nghiệm yếu tố toàn phần 02 mức, 02 yếu tố ảnh hưởng. Chúng tôi thu được kết quả như sau:

Bảng 8

Độ hấp thụ ở bước sóng 680nm khi chần có bổ sung Cu⁺⁺

	Mẫu						
	Số thí nghiệm trong phương án 2k				Tại tâm		
	1	2	3	4	5	6	7
Giá trị OD	8.8	10.4	9.8	11.10	10.4	10.3	10.1

Từ đó, chúng tôi thu được kết quả phương trình hồi quy tương thích thực nghiệm của độ hấp phụ OD như sau:

$$\hat{Y}_1 = 10.025 - 0.725 x_1 - 0.425 x_2 \tag{7}$$

Quy đổi từ biến mã hóa x_i sang biến thật K_i, phương trình biến thực nhận được là:

$$Y = 11.9625 - 0.3625K_1 - 0.0425K_2 \tag{8}$$

Phương trình trên cho thấy các yếu tố nồng độ ion Cu²⁺ và thời gian chần đều ảnh hưởng đến độ hấp phụ OD. Khi nồng độ ion Cu²⁺ và thời gian chần càng tăng thì độ hấp phụ OD càng giảm.

Tối ưu hóa quy hoạch thực nghiệm theo phương pháp đơn hình đều. Thuật toán dừng lại khi đã tới miền chứa giá trị cực đại, các giá trị thí nghiệm hội tụ quanh mẫu tối ưu, ứng với nghiệm thức **thời gian chần 2 phút, nồng độ ion kim loại Cu²⁺ 3.5ppm**.

3.3. Thí nghiệm 3 - Xác định khả năng giữ màu của nectar chùm ngây khi chần trong môi trường kiềm, rồi ngâm trong dung dịch Cu²⁺

Tiến hành thí nghiệm theo phương án quy hoạch trực giao cấp I (TYT 2^k) thực nghiệm yếu tố toàn phần 02 mức, 03 yếu tố ảnh hưởng. Chúng tôi thu được kết quả như sau:

Bảng 9

Độ hấp thụ khi chần có điều chỉnh pH rồi ngâm trong Cu⁺⁺

	Mẫu										
	Số thí nghiệm theo phương án 2k								Tại tâm		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Giá trị OD	10.8	11.1	15.7	15.1	12.5	16.6	17.3	11.4	12.2	12.8	11.9

Từ đó, chúng tôi thu được kết quả phương trình hồi quy tương thích thực nghiệm của độ hấp phụ OD như sau:

$$\hat{Y}_2 = 13.8125 - 1.3625x_2 - 1.0625x_{12} + 1.1375 x_{23} \tag{9}$$

Quy đổi từ biến mã hóa x_i sang biến thật L_i, phương trình biến thực nhận được là:

$$Y = 14.5625 - 0.01 L_2 - 0.95 L_{12} + 2.5 \times 10^{-3} L_{23} \tag{10}$$

Nhận xét: Phương trình trên cho thấy yếu tố thời gian ngâm ảnh hưởng đến độ hấp phụ OD ở bước sóng 680nm. Khi thời gian ngâm tăng thì độ hấp phụ OD giảm.

Tối ưu hóa quy hoạch thực nghiệm theo phương pháp đơn hình đều. Thuật toán dừng lại khi đã tới miền chứa giá trị cực đại, các giá trị thí nghiệm hội tụ quanh mẫu tối ưu, ứng với nghiệm thức **nồng độ NaOH 0.056%, thời gian ngâm 105 phút, nồng độ ion kim loại Cu²⁺ 27ppm.**

3.4. Thí nghiệm 4 - Xác định khả năng giữ màu của nectar chàm ngậy khi chần cơ bản rồi ngâm trong dung dịch Cu²⁺ có bổ sung acid citric

Tiến hành thí nghiệm theo phương án quy hoạch trực giao cấp I (TYT 2^k) thực nghiệm yếu tố toàn phần 02 mức, 02 yếu tố ảnh hưởng. Chúng tôi thu được kết quả như sau:

Bảng 10

Độ hấp thu khi chần rồi ngâm dung dịch Cu⁺⁺

	Mẫu						
	Số thí nghiệm trong phương án 2k				Tại tâm		
	1	2	3	4	5	6	7
Giá trị OD	10.4	6.6	7.70	8.30	7.80	7.70	7.40

Từ đó, chúng tôi thu được kết quả phương trình hồi quy tương thích thực nghiệm của độ hấp phụ OD như sau:

$$\hat{Y}_1 = 8.25 + 0.8x_1 + 1.1x_{12} \quad (11)$$

Quy đổi từ biến mã hóa x_i sang biến thật R_i , phương trình biến thực nhận được là:

$$Y = 10.313 - 0.1037R_1 + 0.00244R_{12} \quad (12)$$

Nhận xét: Phương trình trên cho thấy nồng độ ion Cu²⁺ ảnh hưởng đến độ hấp phụ OD ở bước sóng 680nm. Khi nồng độ ion Cu²⁺ tăng thì độ hấp phụ OD tăng.

Tối ưu hóa quy hoạch thực nghiệm theo phương pháp đơn hình đều. Thuật toán dừng lại khi đã tới miền chứa giá trị cực đại, các giá trị thí nghiệm hội tụ quanh mẫu tối ưu, ứng với nghiệm thức **thời gian ngâm 40 phút, nồng độ ion kim loại Cu²⁺ 26ppm.**

3.5. So sánh các biện pháp xử lý để chọn quá trình xử lý phù hợp

Bảng 11

Bảng so sánh các biện pháp xử lý

Mẫu tối ưu	Điểm cảm quan	Độ bền màu (nhận xét màu sau khi gia nhiệt)
1. Chần 2 phút trong dung dịch Cu ²⁺ 3.5ppm	4.31	- Sản phẩm có màu xanh sáng đặc trưng, tuy nhiên thời gian giữ màu không lâu. Sau một thời gian, có hiện tượng ngả sang màu oliu.
2. Chần trong NaOH: 0.056% rồi ngâm 105 phút trong dung dịch Cu ²⁺ 27ppm	4.4	- Sản phẩm có màu xanh lá đậm, đẹp, đặc trưng. Sau một thời gian bảo quản thì vẫn giữ được màu xanh.
3. Chần rồi ngâm 40 phút trong Cu ²⁺ 26ppm	4.3	- Sản phẩm sau khi thanh trùng có màu xanh lá sáng, đẹp. Không bền trong quá trình bảo quản.

➤ Nhận xét

- Đối với mẫu chân trong dung dịch ion kim loại chúng tôi nhận thấy sau quá trình chân và thanh trùng, sản phẩm cho màu sắc đẹp, xanh sáng. Tuy nhiên, bảo quản sản phẩm trong điều kiện nhiệt độ bình thường, thời gian lần lượt từ 02 ngày đến 01 tuần thì màu xanh của sản phẩm ngả dần sang màu oliu.

- Đối với mẫu chân có điều chỉnh pH kết hợp ngâm trong dung dịch ion kim loại thì chúng tôi nhận thấy, sau các giai đoạn xử lý nhiệt là chân và thanh trùng, màu sắc sản phẩm rất đẹp, có màu xanh lá sáng, đặc trưng. Sau khi bảo quản trong thời gian 02 ngày đến 01 tuần, màu sắc sản phẩm vẫn ổn định.

- Đối với mẫu chân kết hợp ngâm trong dung dịch ion kim loại, sản phẩm cho màu xanh lá sáng, đẹp. Tuy nhiên, thời gian bảo quản không được lâu, sản phẩm chuyển sang màu oliu nhạt.

Tuy các phương pháp đều cho ra các sản phẩm có màu xanh Chlorophyll đẹp, đặc trưng sau các quá trình xử lý nhiệt, nhưng sau thời gian bảo quản dài chỉ có mẫu chân trong NaOH rồi ngâm dung dịch ion kim loại tạo phức là vẫn còn giữ được màu, với thông số của nghiệm thức tối ưu nhất là:

Chân trong NaOH: 0.056% rồi ngâm 105 phút trong dung dịch Cu^{2+} 27ppm.

4. Kết luận

Qua các khảo sát cho thấy ion kim loại đồng (Cu^{2+}) có ảnh hưởng tích cực trong việc giữ màu xanh của lá chum ngay khi chân và xử lý dịch sơ bộ. Việc nghiên cứu giữ màu của sản phẩm cuối bao gồm việc xử lý dịch sơ bộ này, việc thanh trùng sản phẩm và bảo quản sau đó. Trong giai đoạn xử lý dịch này, phương án tối ưu thu nhận được là **chân trong NaOH 0.056% ở nhiệt độ 100°C trong 2 phút rồi ngâm trong dung dịch Cu^{2+} nồng độ 27ppm trong thời gian 105 phút**. Dịch thu được có màu xanh lá đậm, đẹp, đặc trưng, sau khi thanh trùng thử bằng công thức tham khảo thì màu sắc vẫn ổn định sau 01 tuần bảo quản.

Tài liệu tham khảo

- Abilgos, G. R., & Barba, V. C. (1999). Utilization of Malunggay (*Moringa oleifera* Lam.) leaves in rice (*Oryza sativa* L.) flat noodle production. *Philippine Journal of Science*, 128(2), 79-84.
- Abuye, C. (2003). A compositional study of *Moringa stenopetala* leaves. *East African Medical Journal*, 80(5), 247-252.
- Anwar, F., Latif, S., Ashiaf, M., & Gilani, A. H. (2007). *Moringa Oleifera*: A food plant with multiple medical uses. *Wiley Inter Science*, 21(1), 17-25.
- Arabshahi-D, S., Devi, D. V., & Urooj, A. (2007). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chemistry*, 100(3), 1100-1105.
- Dachana, K. B., Rajiv, J., Indrani, D., & Prakash, J. (2010). Effect of dried moringa (*Moringa oleifera* lam) leaves on rheological, microstructural, nutritional, textural and organoleptic characteristics of cookie. *Journal of Food Quality*, 33(5), 660-677.

- Danmalam, U. H., Abubakar, Z., & Katsayal, A. U. (2001). Pharmacognotic studies on the leaves of *Moringa oleifera*. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, 5(1), 45-49. doi:10.4314/njnpm.v5i1.11723
- Fahey, J. W. (2005). *M. oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties (Part 1). *Trees for Life Journal*, 1(5), 1-15.
- Godinez-Oviedo, A., Guemes-Vera, N., & Acevedo-Sandoval, O. A. (2016). Nutritional and phytochemical composition of *moringa oleifera* lam and its potential use as nutraceutical plant: A review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 15(4), 397-405. doi:10.3923/pjn.2016.397.405
- Kim, W. S. (2014). Copper replacement of magnesium in the chlorophylls and bacteriochlorophyll. *Zeitschrift fur Naturforschung B*, 22(10), 1054-1061.
- Le, A. T. H., & Hoang, N. T. N. (2016). Nghiên cứu thu nhận bột màu chlorophyll từ rong nước lợ *Cheatomorpha* sp. đồng bằng sông Cửu Long [Study of obtaining chlorophyll pigments from *Cheatomorpha* sp. brackish seaweed in the Mekong Delta]. *Tạp chí Khoa học Công nghệ & Thực phẩm*, 10(4), 30-38.
- Le, T. N. (2002). *Hóa sinh học công nghiệp [Industrial biochemistry]*. Hà Nội, Việt Nam: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In L. Packer & R. Douce (Eds.), *Plant cell membranes, methods enzymology book series* (1st ed., Vol. 148, pp. 350-382). Oxford, UK: Elsevier Publisher.
- Lockett, C. T., Calvert, C. C., & Grivetti, L. E. (2000). Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(3), 195-208.
- McBurney, R. P. H., Griffin, C, Paul, A. A., & Greenberg, D. C. (2004). The nutritional composition of African wild food plants: From compilation to utilization. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(3/4), 277-289.
- Nguyen, C. (2001). *Quy hoạch thực nghiệm [Experimental planning]*. Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam: Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia TP.HCM.
- Nguyen, L. H. (2001). *Quy hoạch và phân tích thực nghiệm [Experimental planning and analyse]*. Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam: Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia TP.HCM.
- Nhu, C. X. T., & Nguyen, S. T. T. (2019). Khảo sát ảnh hưởng của một số kim loại đến độ bền màu của nectar lá chùm ngây [Research of the influence of some metal on colour durability of *moringa* leaves nectar]. *Kỷ yếu hội nghị khoa học an toàn thực phẩm và an ninh lương thực lần 3 năm 2019, Trung tâm phát triển khoa học và công nghệ trẻ, trường Đại Học Công Nghiệp Thực Phẩm*, 321-329.
- Rajalakshmi, K., & Banu, N. (2015). Extraction and estimation of chlorophyll from medicinal plants. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 4(11), 209-212.
- Sánchez-Machado, I. D., Núñez-Gastélum, A. J., Reyes-Moreno, C., Ramírez-Wong, B., & López-Cervantes, J. (2009). Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. *Food Analytical Methods*, 3(3), 175-180.

- Schunck, E. (1889). The chemistry of chlorophyll. *Annals of Botany*, 3(9), 65-121.
- Smolin, A. L., & Grosvenor, B. M. (2015). *Nutrition: Science and application, 2th Canadian edition*. Hoboken, NJ: Wiley Publishing.
- Zeece, M. (2020). Food colorant. In *Introduction to the chemistry of food* (pp. 313-344). Oxford, UK: Academic Press.
- Zheng, Y., Shi, J., Pan, Z., Cheng, Y., Zhang, Y., & Li, N. (2014). Effect of heat treatment, pH, sugar concentration, and metal ion addition on green color retention in homogenized puree of Thompson seedless grape. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 595-603.

