

TỐI ƯU QUÁ TRÌNH TỔNG HỢP VÀ NGHIÊN CỨU CÁC ĐẶC TÍNH PHỨC HỢP BAO PHÂN TỬ (INCLUSION COMPLEX) CỦA BETA-CYCLODEXTRIN VỚI DẦU HẠT GẮC

Nguyễn Văn Tùng, Nguyễn Lê Lan Anh, Lê Vũ Diệp Anh,
Phùng Gia Mẫn, Nguyễn Văn Anh*

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: anhnv@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 21/11/2022; Ngày chấp nhận đăng: 24/3/2023

TÓM TẮT

Công nghệ vi nang là một giải pháp bao gói hữu hiệu giúp chuyển các hợp chất dạng lỏng, khí sang dạng bột, đồng thời bảo vệ hoạt tính của các hợp chất này trong một cấu trúc rất nhỏ có màng bao bọc nhằm hạn chế tác động của môi trường bên ngoài, cải thiện một số tính chất vật lý của các hợp chất được bao bọc. Trong bài báo này chúng tôi tiến hành nghiên cứu phức hợp bao của β -cyclodextrin với dầu hạt - chứa hàm lượng cao axit α -eleostearic acid. Phức hợp thu được ở trạng thái rắn, bền ở điều kiện thường, độ tan được cải thiện. Các thông số tối ưu của quá trình tạo thành phức chất đã được nghiên cứu bằng phương pháp bề mặt đáp ứng sử dụng mô hình CCD. Các đặc trưng của phức được nghiên cứu bằng các phương pháp phổ UV, FTIR, phân tích khối lượng TGA và phân tích nhiệt DSC. Các kết quả đều chỉ ra rằng, các phân tử triglycerit trong dầu hạt thành công đi vào trong các khoang trống của β -cyclodextrin tạo thành phức hợp dạng bao. Độ bền của các triglycerit chứa axit có nối đôi liên hợp ở trạng thái tạo phức và độ tan của các triglycerit trong dung môi nước được cải thiện rõ rệt (so với mẫu trộn vật lý thông thường).

Từ khóa: Phức hợp bao, dầu hạt gấc, vi nang, β -cyclodextrin, α -eleostearic acid.

1. GIỚI THIỆU

Gấc (*Momordica cochinchinensis*) là một loại cây thân leo lâu năm được trồng rộng rãi ở nước ta với mục đích sử dụng một số thành phần của quả trong chế biến thực phẩm cũng như dược phẩm. Phần thịt quả gấc được sử dụng nhiều nhất, phần hạt đa phần bị loại bỏ sau các quá trình chế biến, tuy nhiên hạt gấc chứa hàm lượng dầu tương đối cao. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng nhân hạt gấc chứa một tỷ lệ dầu cao, dao động từ 35% đến 53% [1, 2]. Các axit béo trong dầu gấc đa phần là những axit béo không bão hòa đa có lợi cho sức khỏe, đặc biệt là sự có mặt của axit béo chứa nối đôi liên hợp (α -eleostearic acid) với hàm lượng cao [3]. Các axit béo chứa nối đôi liên hợp gần đây đã được chứng minh là có nhiều hoạt tính sinh học quý [4, 5], như khả năng gây độc với một số loại tế bào ung thư, khả năng tăng cường hệ miễn dịch, giảm lượng mỡ thừa, giảm béo phì. Tuy nhiên các acid béo này rất dễ bị tác động của môi trường bên ngoài, như nhiệt độ, ánh sáng [6]. Ngoài ra, các triglycerit trong dầu là những chất kém phân cực không tan trong nước, điều này làm hạn chế khả năng ứng dụng của chúng trong công nghệ thực phẩm và dược phẩm. Để cải thiện khả năng ứng dụng của dầu hạt gấc cần chuyển hóa dầu dưới dạng một hợp chất bền có khả năng tan nhất định trong nước. Một trong các kỹ thuật thường dùng trong mục đích này là chuyển dầu thành dạng vi nang [7]. Có nhiều phương pháp tạo vi nang được ứng dụng thành công trong công nghệ dược cũng như thực phẩm bao gồm: phương pháp bao, phương pháp sấy phun, phương pháp phun đồng tụ,

phương pháp tách pha đông tụ và phương pháp tạo phức hợp bao. Trong đó phương pháp sấy phun thường được áp dụng phổ biến đối với những phân tử khách dễ tan trong dầu do tính đơn giản và hiệu quả, tuy nhiên sản phẩm ít ổn định trong quá trình bảo quản. Một số nghiên cứu đã tiến hành tạo vi nang thành công bằng phương pháp sấy phun của dầu gấc (dầu chiết xuất từ cơm gấc - thành phần chính là carotenoid) với chất bao chitosan [8] hay tinh dầu sả chanh sử dụng chất bao là maltodextrin [9]. Phức hợp bao là một dạng phức hợp hóa học độc đáo, trong đó một phân tử được bao bọc trong một phân tử hoặc cấu trúc của các phân tử khác. Sự kết hợp này được đặc trưng bởi sự vắng mặt của các liên kết hóa học thông thường, trong đó, phân tử được bao bọc (phân tử khách) có kích thước và hình dạng phù hợp để vừa với một khoang trong cấu trúc vững chắc được tạo thành bởi các phân tử chất mang (phân tử chủ). Trong những năm gần đây, nhóm chất mang cyclodextrin (CD) được ứng dụng nhiều trong công nghệ vi nang thực phẩm và dược phẩm [10] dưới dạng phức hợp bao. CD là một họ các oligosaccharide mạch vòng, cấu tạo của cyclodextrin với sự có mặt của khoang kỵ nước và mặt ngoài có tính ưa nước cho phép cyclodextrin có thể chứa một phân tử khách kém phân cực trong khoang, tạo thành một dạng phức chất bao (inclusion complex) [11, 12]. Quá trình tạo phức bao giúp bảo vệ phân tử khách khỏi tác động bất lợi của môi trường, tăng tính bền và độ tan của phức bao so với các phân tử khách ở dạng tự do [13, 14]. Tuy nhiên, chưa có một nghiên cứu nào đề cập đến việc tạo phức hợp bao giữa dầu chứa axit béo không no có nối đôi liên hợp với các chất mang thuộc nhóm cyclodextrin. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành tổng hợp và tối ưu hóa các thông số của quá trình tạo phức hợp bao phân tử giữa dầu hạt gấc (chứa hàm lượng cao axit không no có nối đôi liên hợp α -eleostearic acid) và β -cyclodextrin (β CD) và nghiên cứu một số đặc trưng của phức bao tạo thành.

2. HÓA CHẤT, THIẾT BỊ VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, nguyên liệu và thiết bị

Quả gấc (*Momordica cochinchinensis*) được thu hái khi chín (sau 140 ngày từ khi ra quả) tại Tiền Giang vào 5/2022, tiến hành tách lấy hạt, sấy khô ở nhiệt độ 40 °C và lưu giữ ở nhiệt độ 10 °C đến khi sử dụng (0,5 kg hạt gấc khô được lưu giữ trong túi zip (25×25) cm).

n-hexane, dichloromethane (tinh khiết hóa học), isopropanol, acetonitrile (Sigma - Mỹ), các hóa chất còn lại sử dụng đều thuộc loại tinh khiết hóa học.

Các thiết bị được sử dụng bao gồm: Hệ thống kính hiển vi điện tử quét SEM (JSM-IT200, JEOL, Nhật Bản), thiết bị sấy thăng hoa Freezone 2.5 Labconco, thiết bị phân tích khối lượng (TGA) và phân tích nhiệt quét vi sai (DSC) SDT Q600, máy quang phổ UV-Vis Jasco V730 và máy đo FT-IR, hệ thống HPLC Agilent 1260.

2.2. Thực nghiệm

2.2.1. Chiết dầu hạt gấc

Dầu hạt gấc được chiết bằng phương pháp chiết soxhlet sử dụng dung môi ether dầu hỏa sau khi cất quay chân không để đuổi hết dung môi. Sau khi chiết, dầu được làm sạch bằng phương pháp chiết pha rắn sử dụng pha tĩnh là silicagel sử dụng cột sắc ký (Flash-chromatography). Dầu được hòa tan trong *n*-hexane và được đưa lên đầu cột, sau đó rửa giải dầu bằng acetone và cô quay chân không đuổi hết dung môi. Tiến hành phân tích thành phần axit béo của dầu thu được bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo RP HPLC thông qua thành phần của các triglycerit [15]. Các điều kiện sắc ký và phương pháp xác định thành phần triglycerit được tiến hành tương tự như trong nghiên cứu trước đây của Nguyen V.A. và cộng sự [3]. Các điều kiện sắc ký bao gồm: hệ thống sắc ký HPLC Agilent 1260 infinity với đầu dò DAD kết nối với đầu dò khối phổ MS, cột sắc ký pha đảo Chromasil (250 × 4,6) mm 100-5C18, hệ dung môi acetonitrile:isopropanol (70:30) được bổ sung thêm HCOONH₄ với nồng độ 10 mM, nhiệt độ cột 30 °C, đầu dò DAD tại bước sóng $\lambda = 278$ nm.

Các sắc ký đồ được ghi lại, xử lý bằng phần mềm Agilent Chemstation. Đầu dò MS được thiết lập chế độ ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển (APCI) với điện áp phân mảnh 160 V; áp dụng tín hiệu phân tích các ion tích điện dương. Các triglycerit được định tính sử dụng phương pháp số gia (incremental approach) [15]. Kết quả định danh các peak được xác nhận lại bằng phổ hấp thụ phân tử của từng triglycerit và thông tin khối phổ của ion phân tử $[M+H]^+$. Phần mol

của các triglycerit có trong dầu hạt được tính theo công thức:
$$\alpha(TG_i) = \frac{\frac{S_i}{n_i}}{\sum_i \frac{S_i}{n_i}} \times 100\%$$

Trong đó: S_i là diện tích của triglycerit i ;

n_i – là số lượng gốc axit béo liên hợp có trong phân tử triglycerit i .

Phần mol của các axit béo trong thành phần triglycerit được tính theo công thức:

$$\alpha(Acid_j) = \frac{\sum_i \alpha(TG_i) \cdot n_{ij}}{\sum_j \sum_i \alpha(TG_i) \cdot n_{ij}} \cdot 100\%$$

n_{ij} – là số lượng gốc axit béo j có trong phân tử triglycerit i .

2.2.2. Tổng hợp phức hợp bao (inclusion complex)

Dung dịch β D được chuẩn bị trong nước cất với các nồng độ 6,0; 8,0; 10,0 và 12,0 mM và dầu hạt gấc được hòa tan trong 3 mL diethyl ether. Quá trình tổng hợp phức bao được tiến hành bằng cách thêm từ từ dầu hạt gấc vào trong dung dịch β CD trong điều kiện khuấy trộn sử dụng máy đồng hóa huyền phù với tốc độ 4500 vòng/phút. Sau đó hỗn hợp đồng hóa ở tốc độ 11000 vòng/phút trong một khoảng thời gian chỉ định. Quá trình tạo phức được cân bằng trong điều kiện khuấy trộn nhẹ sử dụng máy khuấy từ trong thời gian 2 giờ. Tiến hành loại bỏ dầu dư (không tham gia tạo phức) sử dụng phễu chiết với dung môi n-hexane. Cho toàn bộ lượng hỗn hợp sau khi khuấy trộn vào phễu chiết, tráng cốc bằng 5 mL n-hexane và cho vào phễu thêm 20 mL dung môi, lắc mạnh trong 5 phút. Để yên phễu chiết trong 10 phút để hỗn hợp tách lớp. Tách phần dung dịch chứa phức chất ở trạng thái huyền phù khỏi phần dung môi n-hexane. Dung dịch phức thu được đem đi sấy thăng hoa sử dụng thiết bị Freezone 2.5 Labconco ở 0,021 mbar và -48°C (để thu được phức dạng bột). Phần dầu dư trong dung môi n-hexane được xác định bằng phương pháp quang phổ phân tử UV tại bước sóng 270 nm. Đường chuẩn của nồng độ dầu gấc (mg/mL) được xây dựng bằng phương pháp phổ hấp thụ phân tử tại bước sóng 270 nm ($Abs = 22,267 \times C + 0,0042$; $R^2 = 0,9998$).

2.2.3. Nghiên cứu các đặc tính của phức hợp bao

Phổ FT-IR của dầu hạt gấc, β CD, hỗn hợp vật lý và phức hợp bao β CD/dầu hạt gấc được ghi lại trên máy quang phổ Shimadzu IR Prestige trong vùng từ 450 đến 4000 cm^{-1} ở độ phân giải 1 cm^{-1} . Mẫu được chuẩn bị bằng kỹ thuật nén viên KBr.

Phổ hấp thụ UV - VIS của dầu hạt gấc và phức hợp bao của β CD/dầu hạt gấc được ghi lại bằng máy quang phổ UV-Vis Jasco V730 ở bước sóng từ 220 đến 400 nm trong dung môi n-hexane và nước.

Đặc điểm hình thái bề mặt của phức hợp bao giữa β CD và dầu hạt gấc được ghi lại sử dụng hệ thống kính hiển vi điện tử quét SEM (INSTRUMENT JSM-IT200).

Phân tích khối lượng (TGA) và phân tích nhiệt quét vi sai (DSC) được tiến hành trên máy SDT Q600 trong môi trường argon. Phân tích được thực hiện từ nhiệt độ 25°C đến 500°C ở tốc độ gia nhiệt $10^\circ\text{C}/\text{phút}$.

Độ bền của các axit béo có nối đôi liên hợp trong phức hợp bao đã được nghiên cứu trên cơ sở so sánh với độ bền của hỗn hợp vật lý [16]. Hỗn hợp vật lý được chuẩn bị bằng cách trộn đều một lượng dầu hạt gấc với β CD (tỉ lệ 13:87, w/w). Phức hợp bao và mẫu vật lý được chuẩn bị ở cùng thời điểm và lưu giữ trong túi zip ở nhiệt độ phòng, sau những khoảng thời gian nhất định 50 mg mẫu được lấy ra và tiến hành chiết lại hàm lượng dầu hạt gấc còn lại trong mẫu và xác định bằng phương pháp đo quang phân tử ở bước sóng 270 nm. Phần trăm dầu còn lại (chưa bị phân hủy) được tính toán trên cơ sở so sánh hàm lượng dầu trong mẫu ở thời điểm mới chuẩn bị và tại thời điểm lấy mẫu phân tích.

2.2.4. Thiết kế thí nghiệm bề mặt đáp ứng (RSM)

Phương pháp phối hợp có tâm (central composite design - CCD) với $\alpha = 1$ đã được sử dụng để tối ưu hóa các quá trình tạo phức. Tỷ lệ mol của triglycerit trong dầu và β -cyclodextrin (X), nồng độ ban đầu của β CD (Y) (mM) và thời gian đồng hóa (Z) (phút) được chọn làm các thông số khảo sát và hàm lượng dầu trong phức thu được, % (A) được chọn làm hàm mục tiêu. Hàm lượng dầu trong phức bao được xác định bằng phương pháp khối lượng sau khi chiết hoàn toàn dầu ra khỏi phức bao bằng phương pháp chiết Soxhlet sử dụng dung môi n-hexane ở nhiệt độ cao trong thời gian 8 giờ. Phổ IR của phức sau khi chiết dầu được so sánh với phổ IR của β CD để đảm bảo dầu trong phức được chiết ra hoàn toàn khỏi phức bao. Khoảng giá trị của các yếu tố khảo sát được chọn dựa trên kết quả thu được khi khảo sát các yếu tố bằng phương pháp luân phiên từng biến. Hàm mục tiêu được xây dựng bằng cách sử dụng mô hình bậc hai cho hàm mục tiêu và được biểu thị theo phương trình:

$$\text{Hàm mục tiêu (A)} = \beta_0 + \beta_1X + \beta_2Y + \beta_3Z + \beta_{11}X^2 + \beta_{22}Y^2 + \beta_{33}Z^2 + \beta_{12}XY + \beta_{13}XZ + \beta_{23}YZ$$

$$\text{Hàm lượng dầu trong phức được tính theo công thức: } A (\%) = \frac{m_{\text{dầu}}(mg)}{m_{\text{phức bao}}(mg)} \times 100$$

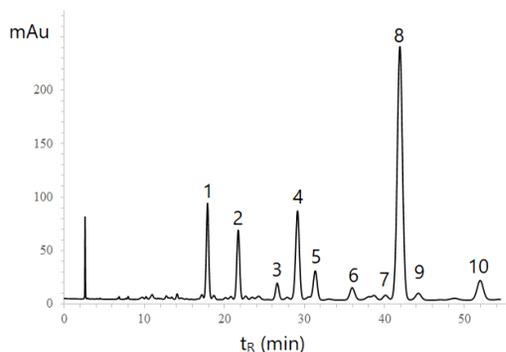
Các dữ liệu được xử lý bằng phần mềm minitab v.9.1.1, các kết quả phân tích ANOVA được đánh giá ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu hóa các thông số của quá trình tạo phức

3.1.1. Thành phần axit béo có trong dầu hạt gấc

Dầu hạt gấc sau khi làm sạch được tiến hành phân tích thành phần của các triglycerit bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo. Sắc ký đồ của dầu hạt gấc được chỉ ra trong Hình 1.



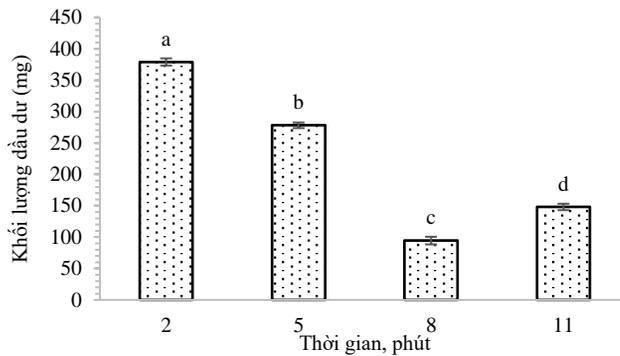
Hình 1. Sắc ký đồ của dầu hạt gấc

Kết quả định tính và định lượng các triglycerit trong dầu hạt gấc được xác định với các thành phần như sau: 1- α E₃: 5,62%; 2- α E₂L: 7,31%; 3- α EL₂: 3,88%; 4- α E₂O: 12,0%; 5- α E₂P:

4,28%; 6- α ELO:4,47; 7- α ELO:1,93; 8- α E₂S: 48,51; 9- α EO₂: 2,68%; 10- α ELC: 9,32%. Các triglixerit được kí hiệu theo quy ước, sử dụng các chữ cái đại diện cho các gốc acid béo và không có sự phân biệt vị trí của các gốc acid béo trong mạch glixerol. Trong đó: L - Linoleic acid (C18:2^{9Z,13Z}); O - Oleic acid (C18:1^{9Z}); S - Stearic acid (C18:0); P - Palmitic acid (C16:0); α E - α -eleostearic acid (C18:3^{9Z,11E,13E}); Kết quả xác định hàm lượng các axit béo trong dầu thu được gồm: axit α -eleostearic: 61,1%; linoleic: 10,3%; oleic: 7,3%; stearic: 19,3%; palmitic: 2,1%. Từ những thông tin trên chúng tôi tính phân tử lượng trung bình của triglixerit trong dầu hạt gấc M = 876,8 (C₃H₅(OCOR)₃), thông tin này được sử dụng để tính số mole triglixerit trong dầu.

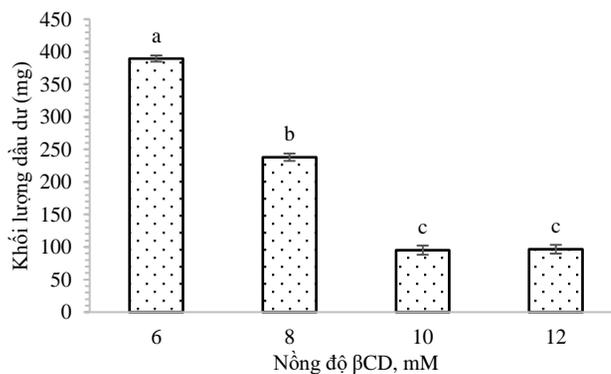
3.1.2. Khảo sát các yếu tố theo phương pháp luân phiên từng biến

Phương pháp luân phiên từng biến được thực hiện để tìm ra khoảng tối ưu của các thông số bao gồm: nồng độ β CD, tỉ lệ mole của triglixerit: β CD, thời gian đồng hóa hỗn hợp. Hàm lượng dầu dư (không tham gia phản ứng tạo phức) trong các thí nghiệm được xác định để đánh giá khả năng tạo phức trong của dầu gấc với β CD. Kết quả khảo sát được chỉ ra trong Hình 2, 3 và 4.



Hình 2. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đồng hóa đến hàm lượng dầu dư sau khi tạo phức; nồng độ β CD 10 mM, tỉ lệ mole TG/ β CD

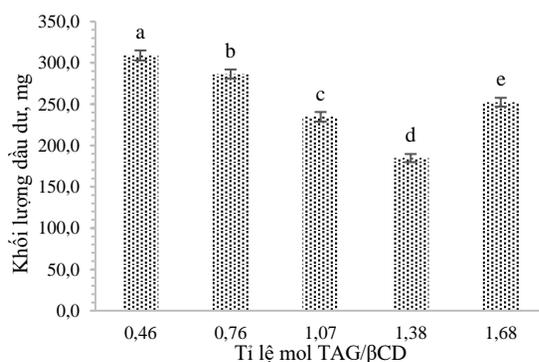
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đồng hóa chỉ ra rằng, hàm lượng dầu dư sau khi tạo phức ở thời gian khoảng 8 phút thấp nhất, khi tăng thời gian đồng hóa từ 2 đến 8 phút thì khả năng tạo phức tăng dần do tăng thời gian va chạm và tiếp xúc của các phân tử triglixerit và β CD, chính vì vậy lượng dầu dư sau quá trình tạo phức giảm nhanh. Tuy nhiên, khi quá trình tạo phức đã đạt tới trạng thái cân bằng, tăng thời gian đồng hóa làm lượng dầu dư tăng lên. Điều này có thể do nguyên nhân dầu hao hụt bắn ra khỏi chất lỏng hoặc bám vào thành thiết bị trong quá trình đồng hóa.



Hình 3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ β CD đến khối lượng dầu dư sau khi tạo phức. Thời gian đồng hóa 8 phút, tỉ lệ mole TG/ β CD 1,39.

Nồng độ β CD ảnh hưởng đáng kể đến quá trình tạo phức trong dung dịch, nồng độ β CD càng lớn thì xác suất va chạm và hình thành phức của các phân tử trong dung dịch càng lớn nên khả năng tạo phức càng tăng. Tuy nhiên do độ tan ở điều kiện nhiệt độ phòng của β CD không lớn, việc chuẩn bị nồng độ lớn hơn 12 mM gặp khó khăn. Ngoài ra, ở nồng độ gần bão hòa các phân tử β CD còn có khả năng tự kết hợp với nhau hình thành dạng đa phân tử và kết tủa trong dung dịch [17, 18]. Chính vì vậy, khi tăng nồng độ 10 mM đến 12 mM hiệu quả tạo phức thay đổi không nhiều (không có sự khác nhau có ý nghĩa với mức $\alpha = 0,05$).

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ mole triligixerit: β CD đến khả năng tạo phức khi thời gian đồng hóa và nồng độ β CD được giữ không đổi. Kết quả chỉ ra trong Hình 4.



Hình 4. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ mole TG/ β CD đến khối lượng dầu dư sau khi tạo phức. Thời gian đồng hóa 8 phút, nồng độ β CD 7,5mM.

Kết quả chỉ ra rằng, khi thay đổi tỉ lệ mole giữa triglixerit và β CD (TG/ β CD) sẽ gây ảnh hưởng lớn đến khả năng tạo phức hợp bao trong dung dịch. Tăng tỉ lệ từ 0,46 đến 1,38 thì khả năng tạo phức tăng, điều này có thể được giải thích bằng sự tăng khả năng phân tán của các triglixerit trong dung dịch, từ đó tăng xác suất va chạm giữa các phân tử triglixerit với β CD. Khi tỉ lệ đạt tối ưu, việc tăng khối lượng dầu chỉ làm tăng hàm lượng dầu dư sau quá trình tạo phức.

Từ những kết quả tối ưu hóa thông số nồng độ β CD, tỉ lệ mole của triglixerit : β CD, thời gian đồng hóa hỗn hợp bằng phương pháp luân phiên từng biến trên, chúng tôi tiến hành tối ưu hóa quá trình hình thành phức hợp bao bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.

3.1.3. Tối ưu hóa các thông số bằng phương pháp bề mặt đáp ứng

Từ những kết quả khảo sát đó, chúng tôi tiến hành tối ưu hóa các điều kiện tạo phức bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Kết quả chỉ ra trong Bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng dầu hạt gấc trong phức hợp bao trong các thí nghiệm được thiết kế dạng CCD

Tỉ lệ mole TG: β CD (X)	Nồng độ β CD (mM) (Y)	Thời gian đồng hóa (phút) (Z)	Hàm lượng dầu trong phức, % (A)
1,4	12,0	8,5	12,5
1,4	9,5	12	12,8
1,9	7,0	5,0	8,5
1,4	9,5	8,5	13,0
1,4	9,5	5,0	10,5
1,4	9,5	8,5	12,8
1,9	12,0	5,0	8,4
0,9	9,5	8,5	7,9
0,9	7,0	5,0	4,1

Tỉ lệ mole TG: βCD (X)	Nồng độ βCD (mM) (Y)	Thời gian đồng hóa (phút) (Z)	Hàm lượng dầu trong phức, % (A)
1,4	9,5	8,5	12,9
1,4	7,0	8,5	10,8
1,9	9,5	8,5	11,0
0,9	7,0	12,0	6,5
0,9	12,0	12,0	9,1
0,9	12,0	5,0	5,6
1,9	7,0	12,0	9,3
1,9	12,0	12,0	10,1

Tiến hành phân tích ANOVA và xây dựng phương trình hồi quy cho hàm mục tiêu A, chúng tôi thu được phương trình hồi quy bậc 2 phụ thuộc của hàm lượng dầu trong phức vào 3 thông số khảo sát như sau:

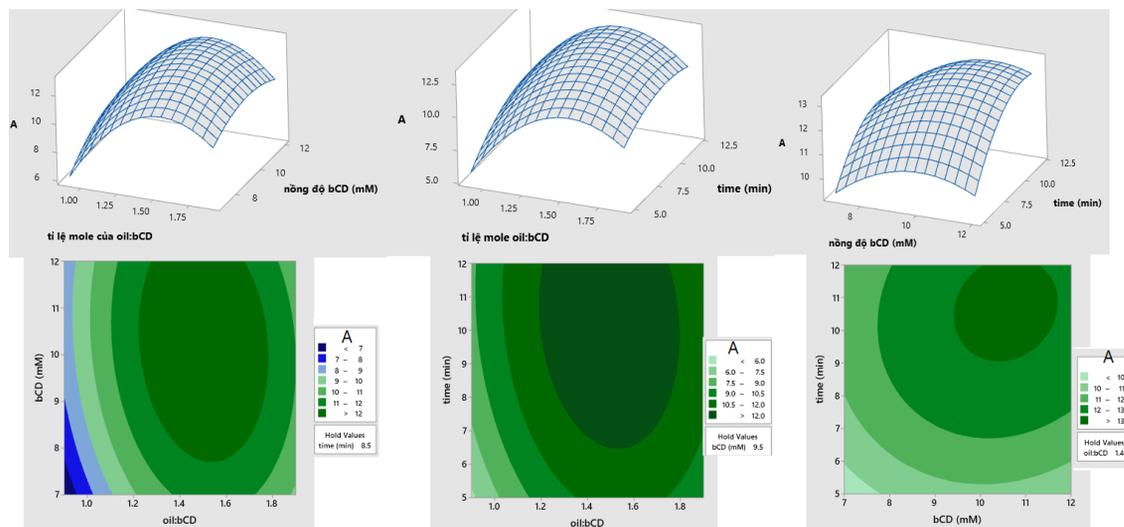
$$A = -45,53 + 43,44 X + 3,394 Y + 1,699 Z - 12,617 X^2 - 0,1527 Y^2 - 0,0779 Z^2 - 0,3400 XY - 0,2429 XZ + 0,02857 YZ \text{ với } R^2=99,68$$

Bảng 2. Kết quả phân tích ANOVA của hàm mục tiêu A

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	116,762	12,9736	238,90	<0,0001
Linear	3	35,555	11,8517	218,24	<0,0001
TG:βCD (X)	1	19,881	19,8810	366,09	<0,0001
βCD (mM) (Y)	1	4,225	4,2250	77,80	<0,0001
time (min) (Z)	1	11,449	11,4490	210,82	<0,0001
Square	3	77,817	25,9391	477,65	<0,0001
X*X	1	26,656	26,6562	490,85	<0,0001
Y*Y	1	2,440	2,4396	44,92	<0,0001
Z*Z	1	2,440	2,4396	44,92	<0,0001
2-Way Interaction	3	3,390	1,1300	20,81	0,001
X*Y	1	1,445	1,4450	26,61	0,001
X*Z	1	1,445	1,4450	26,61	0,001
Y*Z	1	0,500	0,5000	9,21	0,019
Error	7	0,380	0,0543		
Lack-of-Fit	5	0,360	0,0720	7,20	0,126
Pure Error	2	0,020	0,0100		
Total	16	117,142			

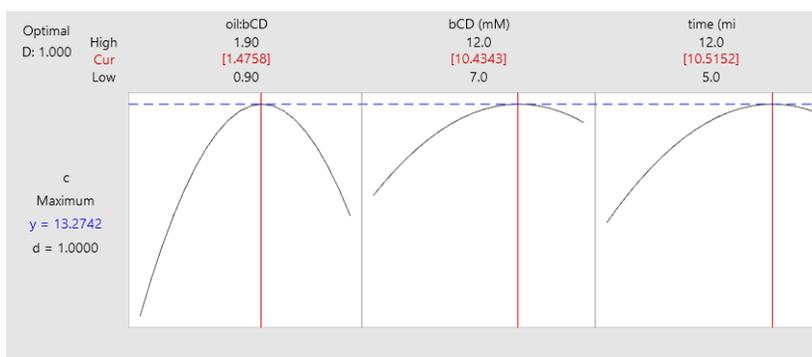
Phân tích phương sai (ANOVA) của mô hình hồi quy bậc hai thu được cho thấy mô hình có ý nghĩa; thông số “Lack-of-Fit” không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Điều này cho thấy rằng mô hình có thể được sử dụng để dự đoán các thông số của quá trình tạo phức. Kết quả phân tích phương sai đầy đủ cho các hệ số của phương trình hồi quy được chỉ ra trong Bảng 2. Kết quả chỉ ra rằng, tất cả các hệ số tuyến tính của ba tham số (X, Y và Z) đều dương, cho thấy tác động cộng hưởng của ba tham số này. Hệ số của thông số tỉ lệ mole TG/βCD (X) là lớn nhất trong ba thông số độc lập, cho thấy thông số này tác động cao nhất đến hàm lượng

của dầu có trong phức [19]. Ảnh hưởng đồng thời của 3 thông số độc lập với hàm mục tiêu được chỉ ra trong Hình 5.



Hình 5. Đồ thị bề mặt đáp ứng và Contour biểu diễn sự ảnh hưởng đồng thời của các cặp thông số đến hàm mục tiêu

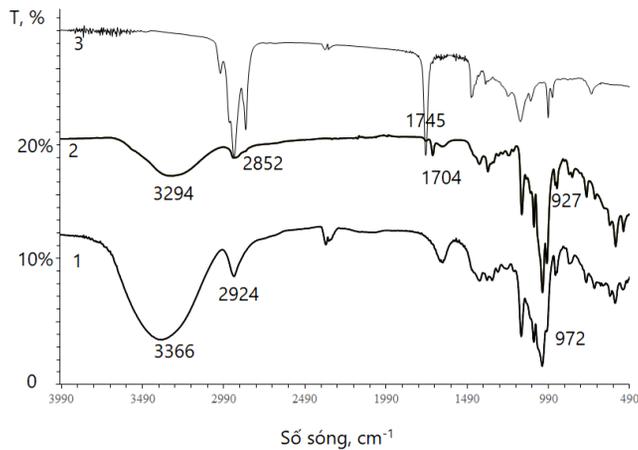
Hàm mục tiêu đạt giá trị tối đa khi nồng độ β CD, tỷ lệ mol TG/ β CD, và thời gian đồng hóa thay đổi trong khoảng 9,5–11,5 mM, 1,3–1,7 và 9–12 phút, tương ứng. Tiến hành tối ưu hóa hàm mục tiêu khi thay đổi đồng thời cả 3 tham số phụ thuộc thu được kết quả thể hiện trong hình 5. Theo mô hình hồi quy đã đề xuất các điều kiện tối ưu được xác định bao gồm: nồng độ β CD 10,4 mM, tỷ lệ mole TG/ β CD: 1,45; thời gian đồng hóa: 10,5 phút. Tiến hành thí nghiệm đối chứng tại điều kiện tối ưu thu được sau đó đánh giá hàm lượng dầu trong phức tại điều kiện tối ưu trên, kết quả thu được cho thấy hàm lượng dầu trong phức đạt $13,08 \pm 0,3 \%$ ($n = 3$) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với kết quả thu được dự đoán từ phương trình hồi quy đề xuất và kết quả này khá tương đồng so với kết quả thí nghiệm tối ưu hóa quá trình tạo phức hợp bao của β -CD với dầu tối bằng phương pháp đồng kết tủa [20].



Hình 6. Tối ưu các thông số của quá trình tạo phức từ mô hình hồi quy đã xây dựng

3.2. Nghiên cứu các đặc tính của phức hợp bao thu được

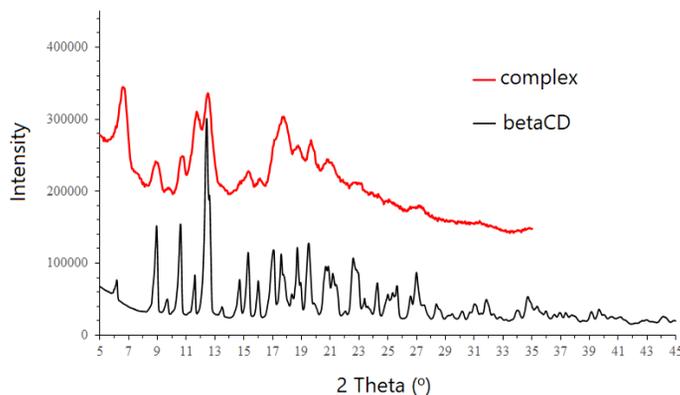
Phổ hồng ngoại của phức hợp bao thu được được so sánh với phổ hồng ngoại của dầu gốc và β CD, kết quả chỉ ra trong Hình 7.



Hình 7. Phổ FTIR của β CD (1); phức hợp bao (2) và dầu hạt gấc (3)

Kết quả chỉ ra rằng, trong phổ hồng ngoại của phức hợp bao thu được tất cả các dải hấp thụ đặc trưng của β CD được giữ nguyên, đồng thời có sự bổ sung các dải hấp thụ của các nhóm chức đặc trưng trong phân tử triglycerit. Khi hình thành phức chất, có sự chuyển dịch rõ nét đỉnh hấp thụ của nhóm C=O (hấp thụ ở số sóng 1704 cm^{-1}) so với đỉnh hấp thụ của nhóm chức đó trong dầu hạt (hấp thụ ở 1745 cm^{-1}). Đồng thời, so sánh với phổ IR của β CD có sự gia tăng cường độ vùng hấp thụ ở vùng $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, đặc trưng dao động kéo dài của $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ (các nhóm CH, CH_2 và CH_3). Ngoài ra, có thể quan sát thấy đối với dao động kéo dài của C–O–C trong vùng $1025\text{--}1158\text{ cm}^{-1}$ ($1028, 1076, 1153\text{ cm}^{-1}$); trong vùng $1480\text{--}1190\text{ cm}^{-1}$, tại số sóng $1452, 1413, 1372, 1332, 1299, 1244\text{ cm}^{-1}$, liên quan đến dao động biến dạng của liên kết C–H, trong phổ IR của phức cũng khác biệt rõ rệt so với phổ IR của β CD. Ngoài ra, vùng 3294 cm^{-1} có sự chuyển dịch rõ ràng so với phổ IR của các β CD ban đầu. Điều này liên quan đến sự hình thành nhiều hơn các liên kết hydro trong phân tử của phức hợp, đồng thời sự có mặt của lực Van der Waals trong quá trình tương tác của các phân tử triglycerit để tạo thành phức hợp bao [21]. Tất cả những đặc trưng trên chỉ ra rằng có sự tương tác của các nhóm chức C=O, C=C và các gốc hydrocarbon của axit béo trong phân tử triglycerit với khoang trống của β CD.

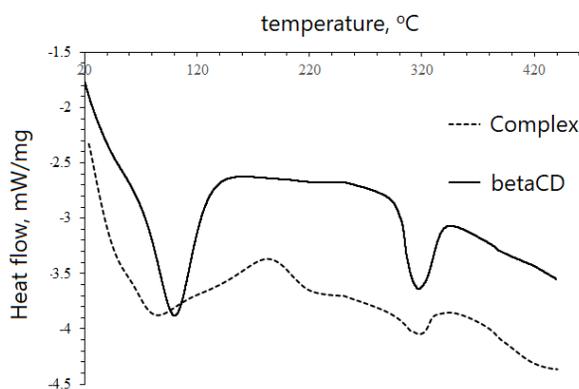
Sự hình thành của một phức hợp bao thay vì một hỗn hợp vật lý giữa β CD và các triglycerit đã được xác nhận bằng phương pháp phân tích nhiễu xạ tia X, phân tích nhiệt và phân tích khối lượng của mẫu phức hợp. Các mẫu phức hợp bao và cyclodextrin được chuẩn bị từ dung dịch sau khi tiến hành sấy thành bột bằng phương pháp sấy đông khô đã được mang đi phân tích.



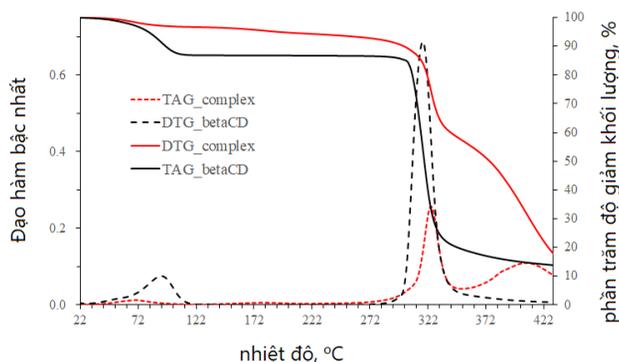
Hình 8. Giản đồ nhiễu xạ tia X của phức hợp bao thu được và β CD

Kết quả chỉ ra rằng sự hình thành phức chất làm thay đổi cấu trúc mạng tinh thể ban đầu của β CD và được chỉ ra trong giản đồ nhiễu xạ (Hình 8). Đối với giản đồ nhiễu xạ của β CD cho thấy độ kết tinh cao, do các đỉnh sắc nét đặc trưng tại các giá trị 2θ là 8,94, 10,60, 12,42, 15,80, 17,50, 18,71, 19,52. Giản đồ nhiễu xạ của phức hợp bao xuất hiện ít peak hơn cho thấy một cấu trúc có độ kết tinh kém hơn với các đỉnh xuất hiện ở 6,62°, 10,75°, 11,72°, 12,52°, 17,75°. Kết quả này khá tương đồng với kết quả phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X của phức hợp bao giữa dầu hướng dương với β CD [22]; với sự xuất hiện của các đỉnh phổ mới có thể dự đoán rằng có sự chuyển pha của phức hợp bao trong quá trình tổng hợp. Việc thay đổi cấu trúc tinh thể mới của phức cho thấy sự hình thành phức hợp bao giữa dầu và β CD. Tương tác giữa các phân tử triglycerit và β CD có thể phá vỡ cấu trúc tinh thể ban đầu của các phân tử β CD và làm biến đổi mạng tinh thể.

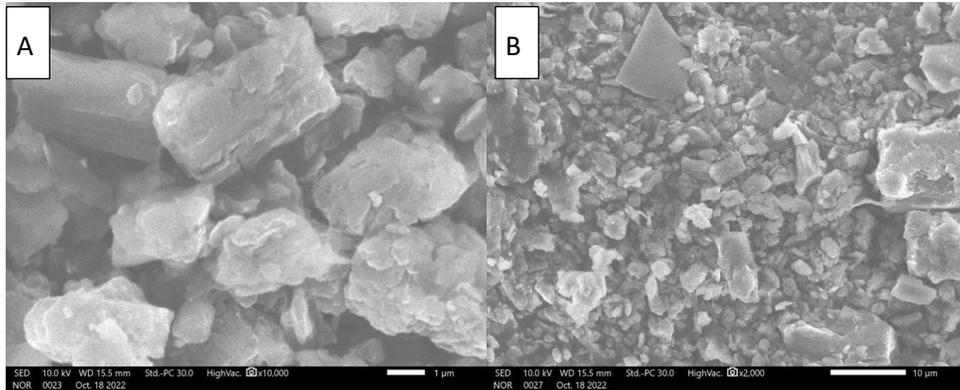
Trên biểu đồ nhiệt DSC của β CD (Hình 9), có một đỉnh thu nhiệt lớn trong khoảng 75-136 °C, liên quan đến quá trình mất nước của β CD, tương ứng với kết quả giảm trọng lượng trong quá trình phân tích khối lượng (TGA) (Hình 10) tại 95,7 °C. Khi nhiệt độ lên đến 280 °C, không thấy giảm khối lượng của mẫu, sau đó quá trình phân hủy của β CD bắt đầu ở nhiệt độ trên 282 °C. Trong khi đó, đối với phức hợp bao của dầu hạt gấc và β CD, đỉnh thu nhiệt và sự giảm khối lượng bắt đầu ở nhiệt độ thấp hơn từ 72 °C - 102 °C. Ngoài peak thu nhiệt ở 320 °C tương tự với phân tử β CD, xuất hiện 1 peak thu nhiệt và giảm khối lượng ở nhiệt độ 400 °C. Peak hấp thụ này có thể liên quan đến quá trình phân hủy phức hợp bao giữa triglycerit và β CD [23].



Hình 9. Kết quả DSC của mẫu β CD và phức hợp bao



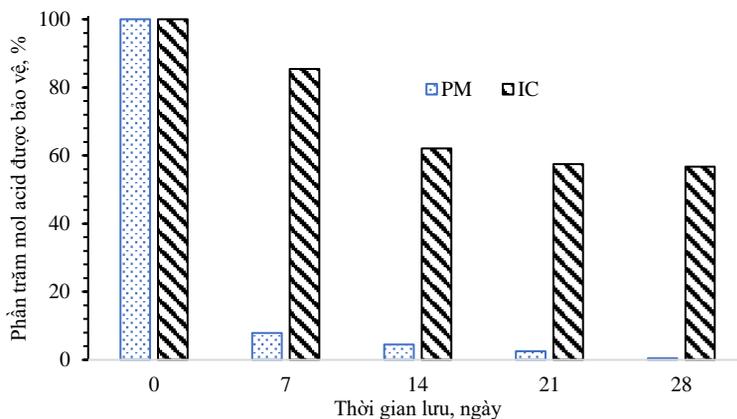
Hình 10. Kết quả phân tích nhiệt TGA của mẫu β CD và phức hợp bao



Hình 11. Ảnh SEM chụp bề mặt của phức hợp bao giữa β CD và dầu hạt gấc ở các độ phóng đại khác nhau A - 10000 lần, B - 2000 lần

Từ hình ảnh SEM của phức hợp giữa β CD và dầu gấc nhận thấy rằng, các phức hợp được tạo thành ở dạng kết tinh tốt với dạng hình trụ không đồng đều, chiều dài trung bình khoảng 4 μ m.

Các kết quả độ tan và phổ hấp thụ phân tử của phức hợp đã được xác định. Kết quả chỉ ra rằng, độ tan của phức trong nước đạt 0,435 mg/ml. Độ hấp thụ của phức trong khoảng bước sóng từ 220-400 nm chỉ ra rằng, cực đại hấp thụ trong ethanol tại bước sóng 270 nm, trong dung môi nước là 272 nm.



Hình 12. Kết quả khảo sát độ bền của phức hợp (IC) và hỗn hợp vật lý (PM) theo thời gian.

Kết quả nghiên cứu độ bền của phức hợp bao trong điều kiện lưu giữ ở nhiệt độ phòng cũng chỉ ra rằng, phức thu được bền hơn đáng kể so với hỗn hợp vật lý thông thường được lưu trữ ở cùng điều kiện, sau 28 ngày, dầu hạt gấc trong hỗn hợp vật lý gần như bị biến đổi hoàn toàn trong khi đó phần trăm biến đổi trong phức hợp bao là 43,32%. Khả năng giữ ổn định các phân tử khách ở trạng thái tạo phức hợp bao có thể giải thích bằng sự che chắn của phân tử β CD với các gốc axit béo không no khi phân tử triglycerit thành công chui vào bên trong các khoang trống của phân tử khách. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả tăng về độ bền của dầu hạt anh thảo (*Evening primrose*) trong phức hợp bao với α CD, β CD và γ CD [24].

4. KẾT LUẬN

Phức hợp bao giữa β CD và dầu hạt gấc đã được tổng hợp thành công khi khuấy trộn dầu hạt gấc với dung dịch nước của β CD. Các thông số của quá trình tạo phức đã được tối ưu hóa sử dụng phương pháp thiết kế thí nghiệm phối hợp có tâm CCD Face central. Các thông số tối

ưu cho quá trình tạo phức bao gồm: nồng độ β CD là 10,4 mM, tỉ lệ mole TG/ β CD là 1,45; thời gian đồng hóa là 10,5 phút ở tốc độ 8000 rpm. Phức hợp sau khi được sấy đông khô chứa 13,02 % dầu hạt gấc, độ tan trong nước đạt 0,432 mg/mL, hấp thụ bước sóng cực đại tại 270 nm trong dung môi ethanol. Bột phức hợp thu được đã được tiến hành nghiên cứu bằng một nhóm các phương pháp: phổ hấp thụ phân tử UV, hồng ngoại FTIR, phân tích nhiệt vi sai DSC, phân tích khối lượng TGA và nhiễu xạ tia X. Các kết quả đều chỉ ra rằng, các phân tử triglycerit trong dầu hạt gấc thành công đi vào khoang trống của các phân tử β CD tạo thành phức hợp bao. Quá trình tạo phức hợp bao cải thiện đáng kể độ tan của các phân tử khách, đồng thời tăng độ bền của phức so với hỗn hợp vật lý giữa β CD và triglycerit. Dầu hạt gấc là một nguồn chứa hàm lượng axit béo có nối đôi liên hợp (α -eleostearic acid) cao (trên 60%). Chính vì vậy phức hợp bao tạo thành giữa β CD và dầu hạt gấc có tiềm năng trở thành nguyên liệu cho ngành công nghiệp dược phẩm cũng như thực phẩm.

Lời cảm ơn: Bài báo được thực hiện trong khuôn khổ của đề tài nghiên cứu khoa học của sinh viên mã số 92/HĐ 20/HĐ-DCT ngày 19/06/2022 của Trường Đại học Công nghiệp Thực Phẩm TP. Hồ Chí Minh (nay là Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ishida B. K., Turner C., Chapman M. H., McKeon T. A. - Fatty Acid and Carotenoid Composition of Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52** (2) (2004) 274–279. doi: 10.1021/jf030616i.
2. Matthaus B., Vosmann K., Pham L. Q., Aitzetmüller K. - FA and tocopherol composition of Vietnamese oilseeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **80** (10) (2003) 1013–1020. doi: 10.1007/s11746-003-0813-y.
3. Nguyen V. A., Deineka V.I., Pham L. Q., Doan L. P., Deineka L.A., Vu T. N. A., Dinh T. T. T. - Determination of triacylglycerols and fatty acid composition of *Momordica cochinchinensis* seed oil and some other plants of this genus. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya* **3** (2019) 53–60. doi: 10.14258/jcprm.2019034801.
4. Yuan G. F., Chen X. E., Li D. - Conjugated linolenic acids and their bioactivities: A review. *Food & Function* **5** (7) (2014) 1360–1368. doi: 10.1039/c4fo00037d.
5. Hennessy A. A., Ross P. R., Fitzgerald G. F., Stanton C. Sources and Bioactive Properties of Conjugated Dietary Fatty Acids. *Lipids* **51** (4) (2016) 377–397. doi: 10.1007/s11745-016-4135-z.
6. Chen J., Cao Y., Gao H., Yang L., Chen Z.-Y. - Isomerization of conjugated linolenic acids during methylation. *Chemistry and Physics of Lipids* **150** (2) (2007) 136–142. doi: 10.1016/J.CHEMPHYSLIP.2007.06.223.
7. Do Amaral P. H. R., Andrade P. L., De Conto L. C., Do Amaral P. H. R., Andrade P. L., de Conto L. C. - Microencapsulation and Its Uses in Food Science and Technology: A Review. *Microencapsulation - Processes, Technologies and Industrial Applications* (2019). doi: 10.5772/INTECHOPEN.81997.
8. Trần Hải Đăng, Đào Thị Kim Thoa, Tạ Thị Minh Ngọc. - Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt và điều kiện đồng tụ tới tính chất hình học của hạt vi nang chitosan - dầu gấc. *Tạp chí khoa học và Công nghệ Việt Nam* **12** (1) (2017) 62–64.
9. Nguyễn Phú Thương Nhân, Mai Huỳnh Cang, Võ Tấn Thành, Trần Thị Yến Nhi, Nguyễn Dương Vũ, Lê Thị Hồng Nhan, Nguyễn Văn Gia Pháp, Bạch Long Giang. - Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu quả quá trình vi bọc

- ting dầu sả dạng bột bằng phương pháp sấy phun. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành **7** (1) (2019) 1–7.
10. Song L. X., Bai L., Xu X. M., He J., Pan S. Z. - Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry. *Coordination Chemistry Reviews* **253** (9) (2009) 1276–1284. doi: 10.1016/J.CCR.2008.08.011.
 11. Loftsson T. Brewster M. E. - Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **85** (10) (1996)1017–1025. doi: 10.1021/js950534b.
 12. Tiwari G., Tiwari R., Rai A. K. - Cyclodextrins in delivery systems: Applications. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* **2** (2) (2010) 72–79. doi: 10.4103/0975-7406.67003.
 13. Shieh W. J., Hedges A. R. - Properties and Applications of Cyclodextrins. *Journal of Macromolecular Science, Part A* **33** (5) (1996) 673–683. doi: 10.1080/10601329608010886.
 14. del Valle E. M. M. - Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry* **39** (9) (2004) 1033–1046. doi: 10.1016/S0032-9592(03)00258-9.
 15. Nguyen V. A., Deineka V.I., Vu. T. N. A., Deineka. L.A., D. T. L. Phuong, and K. Olga. - Thladiantha Seed Oils - New Source of Conjugated Fatty Acids: Characterization of Triacylglycerols and Fatty Acids. *Journal of Oleo Science* **69** (9) (2020) 993–1000. doi: 10.5650/JOS.ESS20075.
 16. Nguyen V. A., Dudina A., Deineka V., Vu T. N. A., Deineka L., Yapryntev M. - Supramolecular Complexes of β -Cyclodextrin with Conjugated Fatty Acids: Synthesis and Stability. *Advances in Biological Sciences Research* **7** (2019) 219-222. doi: 10.2991/isils-19.2019.54
 17. Di Cagno M. - The Potential of Cyclodextrins as Novel Active Pharmaceutical Ingredients: A Short Overview. *Molecules* **22** (1) (2016), 16. doi: 10.3390/molecules22010001.
 18. Loftsson T., Magnúsdóttir A., Másson M., Sigurjónsdóttir J. F. - Self-Association and Cyclodextrin Solubilization of Drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **91** (11) (2002) 2307–2316. doi: 10.1002/jps.10226.
 19. Ren L., Wang J., Chen G. - Preparation, optimization of the inclusion complex of glaucocalyxin A with sulfobutylether- β -cyclodextrin and antitumor study. *Drug Delivery*, **26** (1) (2019) 309-317. doi: 10.1080/10717544.2019.1568623
 20. Khoshtinat K, Barzegar M, Sahari M A, Hamidi Z. Encapsulation of Iranian Garlic Oil with β -cyclodextrin: Optimization and its Characterization. *Journal of Agricultural Science and Technology* **19** (1) (2017) 97-111. <http://jast.modares.ac.ir/article-23-6097-en.html>
 21. Cavalcante A. d. N., Chistiane M. F., Felipe P. S. S., Sousa A. P., Santos R. S., Souza A. A., Pinto B. F., Cristiany M. A., Rashed K. - Elaboration and characterization of the inclusion complex between β -cyclodextrin and the anticholinesterase 2-oleyl-1,3-dipalmitoyl-glycerol extracted from the seeds of *Platonia insignis* MART. *Journal of Molecular Structure*. **1177** (2019) 286–301. doi: 10.1016/J.MOLSTRUC.2018.09.067.
 22. Szente L., Szejtli J., Szemán J., Kató L. - Fatty acid-cyclodextrin complexes: Properties and applications. *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry* **16** (4) (1993) 339–354. doi: 10.1007/BF00708714.

23. Hamdi H., Abderrahim R., Meganem F. - Spectroscopic studies of inclusion complex of β -cyclodextrin and benzidine diammonium dipicrate. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* **75** (1) (2010) 32-36. doi: 10.1016/J.SAA.2009.09.018.
24. Regiert M., Wimmer T., Moldenhauer J. P. - Application of γ -cyclodextrin for the stabilization and/or dispersion of vegetable oils containing triglycerides of. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition In Chemistry* **25** (1) (1996) 213–216. doi: 10.1007/BF01041571.

ABSTRACT

OPTIMIZING THE FORMATION AND STUDYING CHARACTERISTICS OF INCLUSION COMPLEX OF BETA-CYCLODEXTRIN WITH GAC SEED OIL

Nguyen Van Tung, Nguyen Le Lan Anh, Le Vu Diep Anh,
Phung Gia Man, Nguyen Van Anh*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: *anhnv@huit.edu.vn*

Microencapsulation technology is an effective packaging solution that converts liquid and gaseous compounds into powder while preserving the activity of these compounds in a tiny structure with a membrane encapsulated to limit the effects of the external environment and enhance some of the physical properties of the encapsulated compounds. In this paper, we studied the inclusion complex of Gac oil, containing a high content of α -eleostearic acid with β -cyclodextrin. The complex was obtained in the solid state, stable under room conditions, and improved solubility in polar solvents. The optimal parameters of the complex formation process were studied by Response Surface Method using the CCD model. The properties of the complex were studied by a set of methods: UV, FTIR spectroscopy, TGA, and DSC analysis. The results showed that triacylglycerols in the seed oil successfully entered into the empty cavities of β -cyclodextrin to form the inclusion complex. The stability of triglycerides with conjugated fatty acids in the complexing state and the solubility of triglycerides in aqueous solvents are significantly improved compared to conventional physical mixing samples.

Keywords: Inclusion Complex, Gac seed oil, Microencapsulation, β -cyclodextrin, α -eleostearic acid.