

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY CLOROPHYLL, POLYPHENOL VÀ KHẢ NĂNG KHỬ GỐC TỰ DO DPPH TRONG MĂNG TÂY (*Asparagus officinalis*)

Trần Xuân Hiến¹*, Lê Thị Thúy Hằng¹

TÓM TẮT

Các sản phẩm loại ra từ quá trình chế biến măng tây (*Asparagus officinalis*) - đặc biệt gốc măng tây có tiềm năng được sử dụng làm nguồn thực phẩm do chứa hàm lượng polyphenol, clorophyll và khả năng kháng oxy hóa cao. Phương pháp bề mặt đáp ứng được áp dụng để đánh giá quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học trong măng tây. Thiết kế Box-BehnKen với 4 điểm tâm được sử dụng để tối ưu hóa các biến gồm: Tỷ lệ nguyên liệu/nước (g/mL), nhiệt độ (°C) và thời gian trích ly (phút). Mô hình bậc hai có ý nghĩa rất cao ($p < 0,05$) cho các biến đáp ứng. Sau khi tối ưu hóa mô hình hồi quy đa biến, kết quả cho thấy, với tỷ lệ gốc măng tây/nước 1/4,09 g/mL; nhiệt độ trích ly 50,07°C trong thời gian 20,10 phút thu nhận được hàm lượng clorophyll là 0,664 µg/g; hàm lượng polyphenol tổng số 5,75 mgGAE/g và khả năng khử gốc tự do DPPH là 83,55%. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp dẫn liệu khoa học quý giá về măng tây, đặc biệt cho ngành công nghệ thực phẩm, nâng cao giá trị thương phẩm của măng tây.

Từ khóa: Clorophyll, khả năng khử gốc tự do DPPH, măng tây, polyphenol, trích ly.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, trong quá trình sản xuất các sản phẩm từ măng tây, một lượng lớn phụ phẩm từ gốc măng tây hầu như vứt bỏ và trở thành một vấn đề môi trường. Một giải pháp có thể thực hiện để giải quyết vấn đề trên đó chính là việc sử dụng gốc măng tây như một nguồn nguyên liệu tự nhiên có giá trị chức năng cao do những phần này rất giàu các hợp chất có lợi cho sức khỏe con người. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh trong măng tây có nhiều chất dinh dưỡng cần thiết và tốt cho con người như polyphenol, flavonoid, clorophyll,... có khả năng kháng oxy hóa cao, có thể chống ung thư và ức chế hoạt động của enzyme kết hợp với một số loại tế bào khối u, tăng đào thải mỡ. Hơn nữa, xu hướng ưu tiên sử dụng các hợp chất có hoạt tính sinh học nguồn gốc thực vật cũng đang được quan tâm [1]. Những năm gần đây, các nghiên cứu về trích ly các hợp chất sinh học đã được thực hiện trên các loại rau củ và quả [2], [3] và một trong những hợp chất quan tâm nhiều nhất là polyphenol - đóng vai trò hết sức quan trọng

đối với đời sống thực vật như tạo màu sắc đặc trưng, bảo vệ khỏi những tác nhân xâm hại của côn trùng, sự oxy hóa và tác dụng của tia cực tím. Về y học, polyphenol là một trong những hợp chất tự nhiên có nhiều tác dụng như: Chống oxy hóa mạnh, kháng viêm, kháng khuẩn, chống dị ứng, chống lão hóa và một số bệnh tật liên quan đến ung thư [4]. Do đó, việc trích ly các chất có hoạt tính sinh học như clorophyll, polyphenol từ gốc măng tây để ứng dụng vào các sản phẩm thực phẩm có lợi cho sức khỏe là một hướng nghiên cứu giúp nâng cao giá trị sử dụng của măng tây. Vì vậy, chọn lựa kỹ thuật trích ly khác nhau cho các hợp chất sinh học từ chúng là cần thiết và hiệu quả trích ly theo phương pháp bề mặt đáp ứng thông qua tối ưu hóa các yếu tố tác động đã chứng minh sự tiện lợi thực tế của phương pháp này [5].

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Nguyên liệu chính để thực hiện nghiên cứu là gốc măng tây (kích thước từ 3 - 5 cm) được thu nhận từ quá trình chế biến các sản phẩm từ măng tây tại huyện Châu Phú, tỉnh An Giang. Sau khi thu nhận, gốc măng tây được làm sạch, xử lý bằng ozone trong 5 phút và được trữ trong túi PE kín,

¹ Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

* Email: txhien@agu.edu.vn

tránh ánh sáng và không khí xâm nhập, bảo quản ở 5 - 10°C.

Hóa chất phân tích như: Axit gallic chuẩn (Sigma), thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck),... được cung cấp từ Công ty Hóa chất miền Nam, chi nhánh Cần Thơ.

2.2. Tối ưu theo quy hoạch thực nghiệm

Việc sử dụng mô hình bề mặt đáp ứng và mô hình phức hợp trung tâm trong thiết kế thí nghiệm đem lại hiệu quả cao và tiết kiệm được chi phí, thời gian so với các cách bố trí nhân tố đầy đủ theo truyền thống [6]. Ưu điểm lớn nhất của cách bố trí này là giảm được số đơn vị thí nghiệm cần thiết nhưng vẫn mang lại kết quả có ý

nghĩa và khả năng chấp nhận về mặt thống kê. Nghiên cứu sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology: RSM) và mô hình phức hợp trung tâm để xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly đến hiệu suất trích ly và các hợp chất sinh học trong măng tây. Thiết kế Box-BehnKen được sử dụng trong nghiên cứu với ba nhân tố ảnh hưởng chính đến quá trình trích ly gồm tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly, trong đó, mỗi nhân tố được bố trí ở 3 mức độ (Bảng 1). Ngoài ra, để đánh giá độ tương thích của mô hình, phân tích hồi quy ANOVA được sử dụng và dựa trên các hệ số R^2 và p để đưa ra mức ý nghĩa về mặt thống kê của mô hình đạt được.

Bảng 1. Các biến nhân tố và khoảng giá trị biến trong quy hoạch thực nghiệm

Biến số	Kí hiệu	Đơn vị	Mức		
			Thấp	Trung bình	Cao
Tỷ lệ nguyên liệu/nước	X_1	g/mL	1/3	1/4	1/5
Nhiệt độ	X_2	°C	45	50	55
Thời gian	X_3	phút	15	20	25

Sau quá trình trích ly, dịch mẫu thu được được giữ ở nhiệt độ phòng để tiến hành phân tích các chỉ tiêu. Các số liệu thu thập qua quá trình phân tích được xây dựng trên phương trình hồi quy bằng phần mềm Stagraphics centurion.

2.3. Hàm lượng chlorophyll, phenolic tổng và khả năng khử gốc tự do

- Hàm lượng chlorophyll ($\mu\text{g/g}$): Được xác định theo AOAC 942.04 bằng dung môi acetone 85%, dịch chiết đo ở bước sóng 660 nm.

- Hàm lượng phenolic tổng số (TPC) được xác định bởi phương pháp Folin-Ciocalteu [7] bằng cách xây dựng đường chuẩn với axit gallic (GA). Hàm lượng TPC được biểu diễn theo miligam

đương lượng axit gallic trên gam chất khô (mg GAE/g).

- Hoạt tính kháng oxy hóa được đánh giá dựa trên khả năng trung hòa gốc tự do thông qua phản ứng mất màu tím của dung dịch 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) trong methanol trên cơ sở phương pháp Anshu [8] dựng đường chuẩn biểu diễn mối tương quan giữa % hoạt tính loại gốc tự do của DPPH và nồng độ mẫu khác nhau.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Tiến hành thực nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của 3 nhân tố gồm: Quá trình trích ly tỷ lệ nguyên liệu/nước (g/mL), nhiệt độ (°C) và thời gian trích ly (phút). Tiến hành quy hoạch thực nghiệm: 16 thí nghiệm và 8 hàm mục tiêu (Bảng 2).

Bảng 2. Ma trận kế hoạch thực nghiệm

TT	Tỷ lệ nguyên liệu/nước (g/mL)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)
1	1/3	55	15
2	1/3	45	25
3	1/5	45	25
4	1/4	50	28,4
5	1/3	45	25
6	1/4	50	20

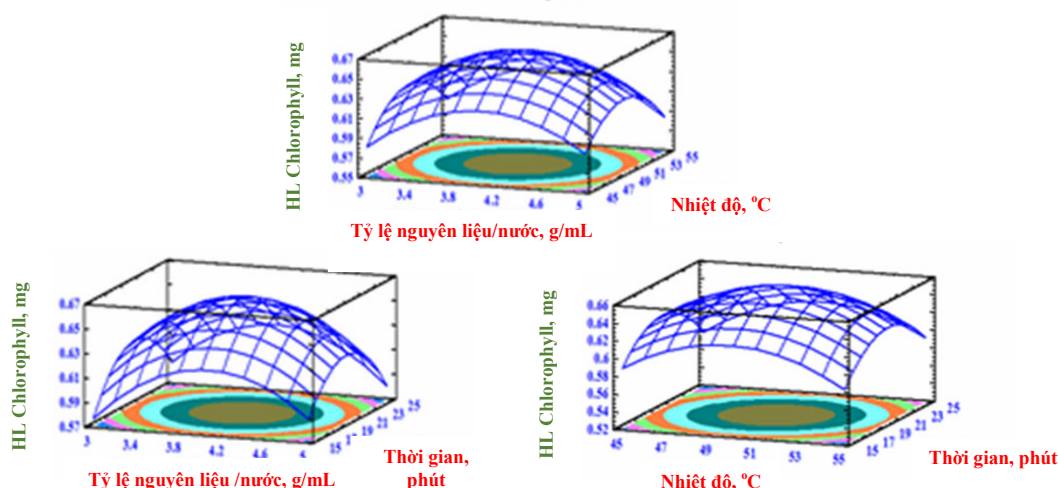
7	1/3	55	25
8	1/2,3	50	20
9	1/4	50	11,6
10	1/3	45	15
11	1/5,7	50	20
12	1/4	41,6	20
13	1/5	45	15
14	1/5	55	15
15	1/4	50	20
16	1/4	58,4	20

3.1. Tối ưu hóa quá trình trích ly đến hàm lượng chlorophyll

Theo Zhang và cs (2007) [9], một tỷ lệ dung môi thích hợp có thể cải thiện hiệu quả trích ly. Khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lớn, cơ hội của các thành phần có hoạt tính sinh học tiếp xúc với dung môi trích ly được mở rộng khi gia tăng lượng dung môi, dẫn đến tăng hiệu suất trích ly. Bên cạnh đó, nhiệt độ cao sẽ làm tăng hiệu quả trích ly, tăng cường mức độ khuếch tán và độ hòa tan của chất phân tích trong dung môi, giảm độ nhớt dung môi, tăng cường sự chuyển khối và xâm nhập của dung môi vào ma trận vật liệu. Ngoài ra, theo định luật Fick [10] về sự khuếch tán khi dự đoán trạng thái cân bằng cuối cùng giữa nồng độ chất tan trong ma trận chất rắn trong dung môi có thể đạt được sau một thời gian nhất định, thời gian chiết tăng thì hàm lượng các chất trong nguyên liệu khuếch tán từ tế bào ra ngoài càng nhiều [11]. Kết quả

ngghiên cứu cho thấy, ảnh hưởng của các biến phụ thuộc trong quá trình trích ly chlorophyll từ gốc măng tây được trình bày dưới dạng mô hình bậc hai. Mô hình hồi quy được xây dựng nhằm giải thích khả năng trích ly chlorophyll trong gốc măng tây. Hệ số xác định ($R^2 = 0,974$) chỉ ra rằng, mô hình phù hợp để thể hiện điều kiện trích ly tối ưu và mối quan hệ giữa các biến với hiệu suất trích ly chlorophyll và tất cả các hệ số của giá trị p đều thể hiện mức độ ý nghĩa cao. Kết quả phân tích mức độ tin cậy và phương sai của các biến độc lập trong mô hình tương quan giữa hàm lượng chlorophyll trong dịch trích từ gốc măng tây với nhiệt độ và thời gian trích ly được tính toán thống kê theo phương trình hồi quy (1) như sau:

$$\begin{aligned} \text{Clorophyll} = & - 4,42116 + 0,371861X_1 + 0,14983X_2 \\ & + 0,0585383X_3 - 0,0401325X_1^2 - 0,000625X_1X_2 - \\ & 0,000925X_1X_3 - 0,00150629X_2^2 + 0,000175X_2X_3 - \\ & 0,00158407X_3^2 \end{aligned} \quad (1)$$



Hình 1. Mô hình hồi quy thu nhận chlorophyll theo tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly tại điểm tối ưu

Hàm lượng chlorophyll tăng khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/nước, tuy nhiên đôi khi hiệu quả chiết xuất sẽ giảm nếu tiếp tục tăng lượng dung môi [12]. Mặt khác, hàm lượng chlorophyll tăng lên đáng kể với tác động tích cực của nhiệt độ cao nhưng nhiệt độ không thể được tăng lên vô hạn, có thể gây ra biến tính hoặc làm thay đổi cấu trúc của hợp chất có nguồn gốc tự nhiên, nâng nhiệt lên đến một mức độ nào đó có thể phân hủy các chất chống oxy hóa mà chúng bền ở nhiệt độ thấp hơn [13]. Vì vậy, nhiệt độ để ly trích và thu nhận các hợp chất sinh học từ thực vật cần phải được kiểm soát chặt chẽ để giảm thiểu thiệt hại các hợp chất tự nhiên. Hơn nữa, hàm lượng chlorophyll tăng lên theo thời gian trích ly và sau đó đạt đến sự ổn định với sự gia tăng thời gian trích ly, thời gian trích ly dài thì mức độ chiết xuất tốt dẫn đến hoạt tính sinh học của dịch trích ly có thể tăng, nhưng đến một lúc nào đó thì các hợp chất sinh học không tăng nữa [14]. Vì vậy, kết quả phân tích hồi quy mô tả mô hình biểu diễn quá trình trích ly thu nhận chlorophyll theo các biến thể hiện trên phương trình (1) có các giá trị hệ số tương quan (R^2) là 0,974. Các giá trị này gần với 1,0 đã thể hiện mức độ tương quan cao giữa các giá trị quan sát. Nếu chỉ xét về hệ số tương quan R^2 [15] nhận định, một mô hình hồi quy đa biến theo phương pháp bề mặt đáp ứng phù hợp nên có hệ số xác định (R^2) tối thiểu là 0,80 - giá trị này thấp hơn nhiều so với R^2 trong nghiên cứu trên. Điều này có nghĩa, phương trình (1) giải thích được 97% các dữ liệu thu nhận thực tế, do đó kết quả này phù hợp với các công bố cho rằng mô hình bậc hai thích hợp với các dữ liệu thực nghiệm và đạt được sự tương quan khá tốt với phân tích phương sai (ANOVA) có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), cả ba nhân tố trích ly đều có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng chlorophyll. Mô hình này cho thấy, khi thay đổi giá trị tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian dẫn đến làm thay đổi giá trị cho hàm mục tiêu. Hệ số của phương trình hồi quy cho thấy, các nhân tố khảo sát có ảnh hưởng mạnh đến quá trình trích ly thu nhận chlorophyll. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đường viền giản đồ mô tả sự thay đổi hàm lượng chlorophyll dưới ảnh hưởng các điều kiện trích ly (Hình 1). Mô hình bề mặt đáp ứng

(Hình 1) thể hiện sự tương tác của từng cặp yếu tố và dựa vào mô hình này có thể xác định được giá trị tối ưu của từng yếu tố ảnh hưởng làm cho hàm đáp ứng đạt giá trị cực đại. Theo hình 1, khi tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly tăng thì khả năng thu nhận chlorophyll có khuynh hướng tăng. Tuy nhiên, tăng tới điểm tối ưu và sau đó có khuynh hướng giảm nhẹ. Bằng các thuật toán phân tích tối ưu sử dụng chương trình Portable Statgraphics Centurion 15.2.11.0 thu được giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu, kết quả: Thông số tối ưu cho quá trình trích ly thu nhận chlorophyll từ gốc măng tây với tỷ lệ nguyên liệu/nước 1/4,09 g/mL, nhiệt độ trích ly 50,07°C trong thời gian 20,10 phút, đạt hàm lượng chlorophyll tối ưu là 0,66 µg/g. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương tự nghiên cứu của Nordiyana và cs (2013) [3], Al-idee và cs (2020) [12], Gunathilake và cs (2019) [16] khi tối ưu hóa trích ly các hợp chất màu của một số loài thực vật theo phương pháp bề mặt đáp ứng.

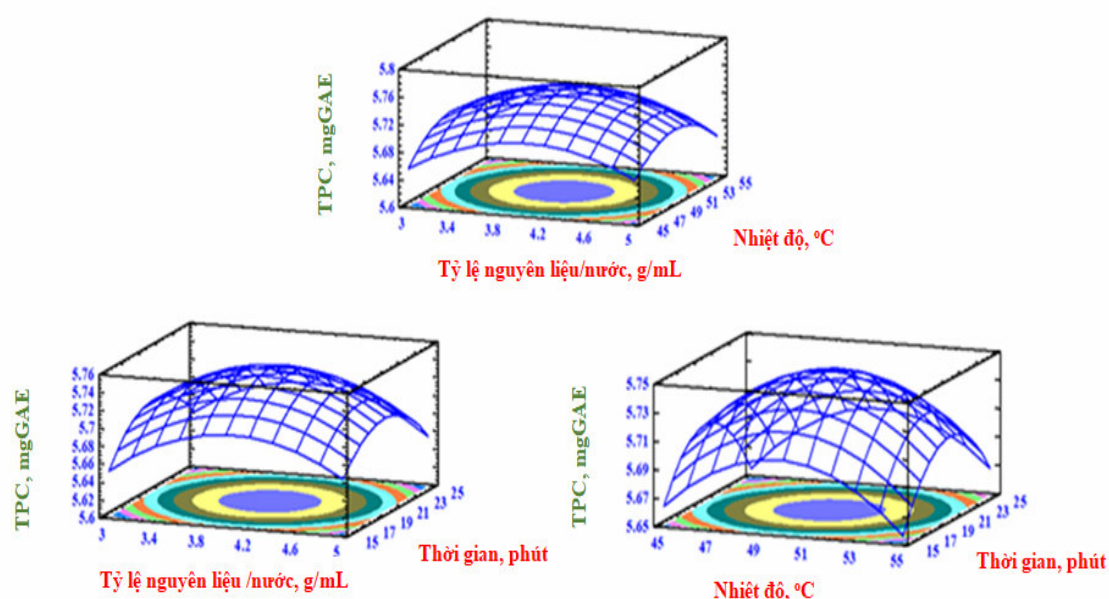
3.2. Tối ưu hóa quá trình trích ly đến polyphenol tổng số

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol tổng số của dịch trích ly, tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy tốc độ khuếch tán, nâng cao khả năng tiếp xúc, cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn [17]. Lượng dung môi quá thấp không đủ khả năng tạo động lực cho quá trình thẩm thấu, khuếch tán vào nguyên liệu, các hợp chất chiết không được hòa tan triệt để vào dung môi. Ngoài ra, nếu lượng dung môi cao thì oxy hòa tan vào dung môi càng lớn, sự có mặt của oxy không chỉ làm giảm hàm lượng mà còn làm suy yếu hoạt tính của polyphenol [4]. Tỷ lệ nguyên liệu/nước có ảnh hưởng đáng kể đến giá trị TPC, giá trị TPC tăng khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/nước. Kết quả này phù hợp với nguyên tắc truyền khối mà động lực cho khối lượng chuyển khối được coi là gradient nồng độ giữa chất rắn và dung môi. Tuy nhiên, sản lượng các thành phần có hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng khi đã đạt sự cân bằng [3], do đó, việc chọn tỷ lệ nguyên liệu/nước phù hợp không những nâng cao hiệu quả thu nhận TPC mà còn giúp hạn chế lãng phí một lượng dung môi

nhằm tiết kiệm chi phí. Bên cạnh đó, các hợp chất polyphenol đều là những chất có khả năng chống oxy hóa và bản thân chúng cũng rất dễ bị oxy hóa hay bị phân hủy, nhất là khi có tác dụng của nhiệt độ, nhiệt độ trích ly tác động đến khả năng hòa tan, tốc độ truyền khối và sự ổn định của các hợp chất polyphenol. Sự gia tăng nhiệt độ phù hợp có thể làm tăng hiệu quả trích ly do làm giảm độ nhớt, tăng khả năng thẩm thấu của dung môi vào tế bào, tăng khả năng hòa tan và hệ số khuếch tán của các hợp chất được trích ly [18]. Nhiệt độ phù hợp còn có thể làm mềm các mô, suy yếu vách tế bào, làm thủy phân các hợp chất polyphenol liên kết cũng như tăng cường khả năng hòa tan phenolic, vì vậy nhiều polyphenol sẽ hòa tan vào trong các dung môi. Vượt quá giới hạn nhiệt độ trích ly sẽ làm giảm giá trị TPC do sự phân hủy các hợp chất polyphenol từ sự thủy phân, oxy hóa khử và polymer hóa [4]. Ngoài nhiệt độ trích ly thì thời gian trích ly cũng khá quan trọng trong việc chiết xuất các hợp chất phenolic bằng dung môi, thời gian trích ly thích hợp giúp tiết kiệm thời gian

và chi phí của quá trình thực hiện [19]. Khi kéo dài thời gian trích ly từ 15 - 25 phút, giá trị TPC trong dung môi tăng lên đáng kể. Việc kéo dài thời gian trích ly đã cải thiện được hiệu suất trích ly. Tuy nhiên, khi thời gian trích ly kéo dài sẽ có hiệu suất trích ly không cải thiện đáng kể và thậm chí có hiệu quả tiêu cực, không như mong đợi, có thể hàm lượng polyphenol sẽ giảm [20]. Sau khi xử lý dữ liệu thực nghiệm cho thấy, kết quả thử nghiệm có ý nghĩa đối với mỗi hệ số hồi quy, sự phù hợp của mô hình được kiểm tra qua hệ số xác định tương quan R^2 . Mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm đã thỏa mãn điều kiện với thông số R^2 cao ($R^2 = 0,998$) và tất cả các hệ số của giá trị p đều thể hiện mức độ ý nghĩa cao. Phương trình hồi quy (2) mô tả hàm lượng TPC của quá trình trích ly dịch chiết gốc măng tây như sau:

$$\begin{aligned} \text{TPC} = & 0,0517448 + 0,411698X_1 + 0,168606X_2 + \\ & 0,0648351X_3 - 0,0453765X_1^2 - 0,0006X_1X_2 - \\ & 0,0009X_1X_3 - 0,0017019X_2^2 + 0,00021X_2X_3 - \\ & 0,00178675X_3^2 \end{aligned} \quad (2)$$



Hình 2. Mô hình hồi quy thu nhận polyphenol theo tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly tại điểm tối ưu

Phương trình hồi quy (2) có dạng hàm bậc 2 và đạt được sự tương quan khá tốt với phân tích phương sai (ANOVA) có ý nghĩa thống kê

($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy, cả ba nhân tố trích ly đều có ảnh hưởng đáng kể đến giá trị TPC. Kết quả này cũng phù hợp với xu hướng chung của các

quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu thực vật. Theo đó, các yếu tố công nghệ khác nhau có chiều ảnh hưởng cũng khác nhau. Kết quả từ mô hình cho thấy, các yếu tố công nghệ riêng lẻ như tỷ lệ nguyên liệu/nước (X_1), nhiệt độ (X_2), thời gian (X_3) đều có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y (TPC) ($p < 0,05$), khi thay đổi giá trị các yếu tố công nghệ này sẽ dẫn đến làm thay đổi giá trị cho hàm mục tiêu với hệ số tương quan khá cao ($R^2 = 0,977$). Nếu chỉ xét về hệ số tương quan R^2 , [15] nhận định một mô hình hồi quy đa biến theo phương pháp bề mặt đáp ứng phù hợp nên có hệ số xác định (R^2) tối thiểu là 0,80 - giá trị này thấp hơn nhiều so với R^2 trong nghiên cứu trên. Điều này có nghĩa là phương trình (2) giải thích được 97,7% các dữ liệu thu nhận thực tế. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đường viền giản đồ (Hình 2) mô tả sự thay đổi giá trị TPC dưới ảnh hưởng của các điều kiện trích ly.

Hình 2 cho thấy, cả ba nhân tố trích ly như: Tỷ lệ nguyên liệu/nước (X_1), nhiệt độ (X_2), thời gian (X_3) đều có ảnh hưởng đến quá trình trích ly TPC từ nguyên liệu. Hình 2 cũng chỉ ra rằng, cả ba nhân tố bao gồm: X_1 , X_2 và X_3 đều có tương tác với nhau và ảnh hưởng đến hàm mục tiêu. Khi tăng X_1 , X_2 và X_3 hàm lượng TPC tăng, nhưng nếu tiếp tục tăng các yếu tố đó thì hàm lượng TPC sẽ giảm. Bằng các thuật toán phân tích tối ưu sử dụng chương trình Portable Statgraphics Centurion 15.2.11.0 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu, kết quả: Thông số tối ưu cho quá trình trích ly thu nhận TPC từ 1 g nguyên liệu, nhiệt độ trích ly 50,07°C trong thời gian 20,10 phút, đạt giá trị TPC tối ưu là 5,75 mg GAE/g khi sử dụng 1/4,09 g/mL. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương tự với công bố của Kossah và cs (2010) [4] khi tiến hành tối ưu hóa việc thu nhận hàm lượng polyphenol trong một số thực vật theo mô hình bề mặt đáp ứng.

3.3. Tối ưu hóa quá trình trích ly đến khả năng khử gốc tự do DPPH

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi cũng như nhiệt độ đều có ảnh hưởng đến hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích ly, nhiệt độ cao gây ra các tương tác giữa các phân tử trong dung môi, làm tăng chuyển động của các phân tử này, do đó nâng cao sự dịch

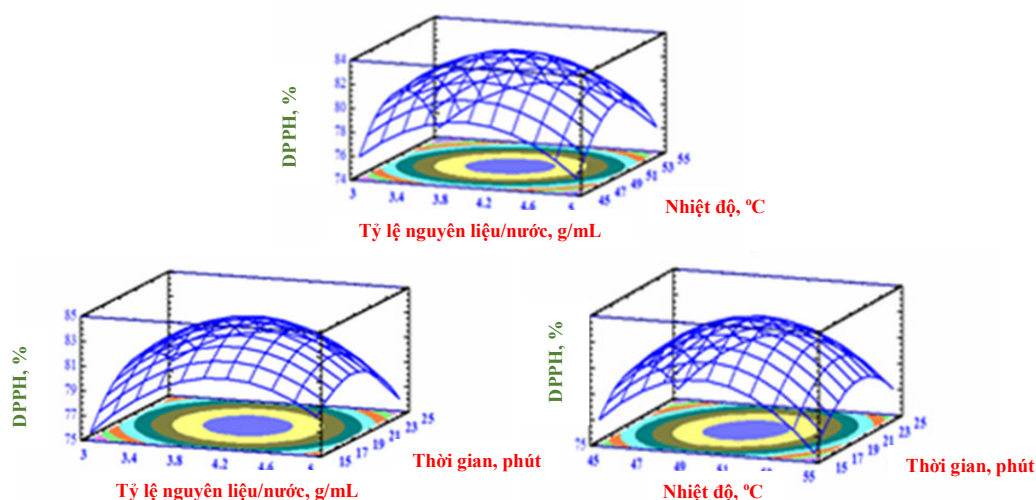
chuyển các chất và làm tăng độ hòa tan, kết quả là hiệu quả trích ly được sẽ cao hơn [9]. Bên cạnh đó, kéo quá dài thời gian trích ly sẽ làm giảm khả năng kháng oxy hóa DPPH của dịch trích ly [18]. Nghiên cứu cho thấy, khi thay đổi tỷ lệ nguyên liệu/nước thì khả năng kháng oxy hóa dịch gốc măng tây cũng thay đổi theo, tỷ lệ nguyên liệu/nước tăng từ 1/3 g/mL lên 1/5 g/mL thì khả năng bắt gốc tự do dịch trích ly cũng tăng, kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Rajha và cs (2014) [20] theo đó, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng có ý nghĩa đến khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly từ một số thực vật. Kết quả thực nghiệm nhận thấy, nhiệt độ trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến khả năng kháng oxy hóa của gốc măng tây ($p < 0,05$), khi tiếp tục nâng nhiệt thì hiệu quả trích ly khuynh hướng giảm nhưng với tốc độ giảm chậm hơn [20], kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như nghiên cứu của Hiba và cs (2014) [19] cho rằng, khả năng chống oxy hóa DPPH cũng bị tác động bởi nhiệt độ. Mặt khác khi thời gian trích ly kéo dài từ 15 - 25 phút nhận thấy khả năng khử gốc tự do cũng bị tác động, kết quả này cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Hiba và cs (2014) [19] theo đó, thời gian chi phối việc chiết xuất khả năng chống oxy hóa DPPH trong một số loài thực vật. Từ các nghiên cứu trên cho thấy, có sự phù hợp của mô hình được kiểm tra qua hệ số xác định tương quan R^2 , mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm đã thỏa mãn điều kiện với thông số R^2 cao ($R^2 = 0,984$) và tất cả các hệ số của giá trị p đều thể hiện mức độ ý nghĩa cao. Phương trình hồi quy (3) mô tả hàm lượng DPPH của quá trình trích ly dịch chiết gốc măng tây như sau:

$$\begin{aligned} \text{DPPH} = & -421,871 + 29,6351X_1 + 16,1253X_2 + \\ & 4,25448X_3 - 3,73636X_1^2 + 0,097175X_1X_2 - \\ & 0,221375X_1X_3 - 0,170418X_2^2 + 0,026205X_2X_3 - \\ & 0,116424X_3^2 \end{aligned} \quad (3)$$

Kết quả phân tích hồi quy theo phương trình hồi quy (3) có dạng hàm bậc hai và đạt được sự tương quan khá tốt với phân tích phương sai (ANOVA) có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), điều này cho thấy phù hợp và có thể dự đoán chính xác hàm mục tiêu nghiên cứu. Nếu chỉ xét về hệ số tương quan R^2 [15], một mô hình hồi quy đa biến theo

phương pháp bề mặt đáp ứng phù hợp tốt nên có hệ số xác định (R^2) tối thiểu là 0,80 và so kết quả thực nghiệm cho thấy, cả ba nhân tố trích ly đều có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng khử gốc tự do DPPH ($R^2 = 0,989$). Mô hình này nhận thấy, khi thay đổi giá trị tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ trích ly và thời gian sẽ dẫn đến làm thay đổi giá trị cho hàm mục tiêu, điều này có nghĩa là phương trình (2) giải thích được 98,9% các dữ liệu thu nhận thực tế. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đường viền giản đồ (Hình 3) mô tả sự thay đổi của khả năng khử gốc tự do DPPH dưới ảnh hưởng của các điều kiện trích ly. Mô hình bề mặt đáp ứng (Hình 3) thể hiện sự tương tác của từng cặp yếu tố và dựa vào mô hình này có thể xác định được giá trị tối ưu của từng yếu tố ảnh hưởng làm cho hàm đáp ứng đạt

giá trị cực đại, khi tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly tăng thì khả năng khử gốc tự do DPPH có khuynh hướng tăng. Tuy nhiên, tăng tới điểm tối ưu và sau đó có khuynh hướng giảm. Bằng các thuật toán phân tích tối ưu sử dụng chương trình Portable Statgraphics Centurion 15.2.11.0 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu, kết quả: khả năng khử gốc tự do DPPH đạt giá trị tối ưu là 83,55% với tỷ lệ nguyên liệu/nước 1/4,09 g/mL, nhiệt độ trích ly 50,07°C trong thời gian 20,10 phút. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Jun và cs (2021) [2] về khả năng khử gốc tự do DPPH khi tối ưu hóa khả năng chiết xuất dịch từ một số loài thực vật theo phương pháp bề mặt đáp ứng.



Hình 3. Mô hình hồi qui thu nhận DPPH theo tỷ lệ nguyên liệu/nước, nhiệt độ và thời gian trích ly tại điểm tối ưu

4. KẾT LUẬN

Tối ưu hóa đồng thời nhiều bề mặt đáp ứng là mối quan tâm chính cho các ứng dụng trong công nghiệp, đặc biệt là chi phí năng lượng cho quá trình được giảm bớt đáng kể khi các thông số công nghệ được tối ưu hóa. Sau quá trình nghiên cứu thu được kết quả quá trình trích ly thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng khử gốc tự do trong dịch trích từ gốc măng tây tối ưu đạt được từ mô hình với tỷ lệ gốc măng tây/nước 1/4,09 g/mL, nhiệt độ trích ly 50,07°C trong thời gian 20,10 phút có hàm lượng chlorophyll là 0,664

µg/g; hàm lượng polyphenol tổng 5,75 mg GAE/g và khả năng loại gốc tự do DPPH là 83,55%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Williamson, G. and Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 243 - 255.
2. Jun, W., Jiangtao, Z., Xin, Y., Yue, S., Siyu, Z. and Yinglao, Z. (2021). Extraction optimization by using response surface methodology and purification of yellow pigment from *Gardenia*

jasminoides var. *radicans* Makikno. Food Science Nutrition, 9: 822 - 832.

3. Nordiyannah, A., Ahmad, F. M. A., Naziz, S., Norkasmani, A. and Rosna, M. T. (2013). Optimization of extraction parameters by using response surface methodology, purification, and identification of anthocyanin pigments in *Melastoma malabathricum* fruit. *The Scientific World Journal*.

4. Kossah, R., Nsabimana, C., Zhang, H., and Chen, W. (2010). Optimization of extraction of polyphenols from syrian sumac and chinese sumac fruits. *Research Journal of Phytochemistry*, 4: 146 - 153.

5. Kurozawa, L. E., Park, K. J. and Hubinger, M. D. (2008). Optimization of the enzymatic hydrolysis of chicken meat using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 73(5): 405 - 412.

6. Betiku, E., Akindolani, O. O. and Ismaila, A. R. (2013). Enzymatic hydrolysis optimization of sweet potato (*Ipomoea batatas*) peel using a statistical approach. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 30(3): 467 - 476.

7. Susu, J., Weixi, C. and Baojun, X. (2013) Food quality improvement of soy milk made from short-time Germinated Soybeans. *Foods*, 2: 198 - 212.

8. Anshu Singh, Arindam Kuila, Geetanjali Yadav and Rintu Banerjee (2011). Process optimization for the extraction of polyphenols from Okara. *Food Technology Biotechnol*, 49(3): 322 - 328.

9. Zhang, S. Q., Bi, H. M. and Luu, C. J. (2007). Extraction of bio-active components from *Rhodiola sachalinensis* under ultra high hydrostatic pressure. *Separation and Purification Technology*, 57: 277 - 282.

10. Silva, E. M., Rogez, H., and Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55: 381 - 387.

11. Cracolice, M. and Peters, E. (2009). Basics of introductory chemistry: An active learning approach, CA:Brooks/Cole

12. Al-idee, T., Habbal, H. and Karabet, F. (2020). Determination of the optimum extraction conditions of carotenoid pigment from orange peel by response surface methodology. *Journal of Materials and Environmental Science*, 11(7): 1141 - 1149.

13. Sun, B. and Spranger, M. I. (2005). Quantitative extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes. *Ciência Técnica Vitivinícola*, 20: 59 - 89.

14. Pinelo, M., Sineiro, J. and Núñez, M. J. (2006). Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*, 77: 57 - 63.

15. Guan, X. and Yao, H. (2008). Optimization of viscozyme assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106: 345 - 351.

16. Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S. and Rupasinghe, H. P. V. (2019). Response surface optimization for recovery of polyphenols and carotenoids from leaves of centella asiatica using an ethanol-based solvent system. *Food Science Nutrition*, 7: 528 - 536.

17. Wenjuan, Q., Zhongli, P. and Haile, M. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering*, 99: 16 - 23.

18. Wissam, Z., Ghada, B, Wassim, A. and Warid, K. (2012). Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3): 675 - 682.

19. Hiba, N. R., Nada, E. D., Zeina, H., Nadia, B., Eugene, V., Richard, G. M. and Nicolas. L. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins from Grape by products by response surface methodology. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 397 - 409.

20. Rajha, N. H., Darra, E. N., Hobaike, Z., Bouseetta, N., Vorobiev, E., Maroun, G. R. and Louka, N. (2014). Extraction of total phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannin from grape byproducts by response surface methodology. *Journal Food Nutrition Science*, 5: 397 - 409

**OPTIMIZATION OF CHLOROPHYLL, POLYPHENOL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY DPPH
EXTRACTIONS FROM *Asparagus officinalis***

Tran Xuan Hien¹, Le Thi Thuy Hang¹

¹*Faculty of Agriculture and Natural Resources, An Giang University (VNU-HCM City)*

Summary

The by-products of *Asparagus officinalis* processing - especially *Asparagus officinalis* root - have the potential to be used as a food source due to their high content of polyphenols, chlorophyll and antioxidant capacity. The Response surface method was applied to evaluate the extraction of bioactive compounds in asparagus. Box-BehnKen design 4 center points was used to optimize variables including material/water ratio (w/mL), temperature (°C) and extraction time (minute). The quadratic model has very high significance ($p < 0.05$) for the response variable. After optimizing the multivariate model, the results show that with the ratio of *Asparagus officinalis* root/water 1/4.09 (w/v); extraction temperature 50.07°C for 20.10 minute, obtained chlorophyll 0.664 µg/g; total polyphenol 5.75 mgGAE/g and antioxidant activity DPPH 83.55%. Experimental results provide valuable scientific data on *Asparagus officinalis*, especially for the food industry, increase the commercial value of *Asparagus officinalis*.

Keywords: *Asparagus officinalis*, chlorophyll, DPPH radical scavenging, extraction, phenolics.

Người phản biện: TS. Dương Thị Phương Liên

Ngày nhận bài: 4/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 12/9/2023

Ngày duyệt đăng: 19/9/2023