

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY HỢP CHẤT POLYPHENOL TỪ CÂY DỪ DẺ (*Anomianthus dulcis*) VỚI SỰ HỖ TRỢ CỦA SÓNG SIÊU ÂM

Đỗ Duy Tân¹, Nguyễn Thị Ngọc Hân², Trịnh Ngọc Thảo Ngân³,
Katleen Raes⁴, Hoàng Quang Bình³, Lê Trung Thiên³

TÓM TẮT

Polyphenol là hợp chất chống oxy hóa tự nhiên với nhiều công dụng có lợi cho sức khỏe của con người. Nghiên cứu này đã đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố như nhiệt độ, thời gian trích ly, công suất và thời gian siêu âm đến hiệu quả trích ly các hợp chất phenolic axit từ lá và cành cây Dừ dẻ với sự hỗ trợ của sóng siêu âm (UAE). Hàm lượng tổng các hợp chất tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích cây Dừ dẻ được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ. Kết quả thực nghiệm cho thấy sử dụng dung môi ethanol 60% và trích ly ở nhiệt độ 50°C trong 2 giờ kết hợp với sự hỗ trợ của sóng siêu âm ở công suất 60W/g trong 90 giây cho hàm lượng polyphenol tổng của dịch trích là cao nhất 17,20 g GAE/100g VCK, hoạt tính chống oxy hóa cao DPPH (14,41 g AAE/100g VCK), ABTS (14,71 AAE/100g VCK) và FRAP (52,31g Fe²⁺/100g VCK).

Từ khóa: Cây Dừ dẻ, hoạt tính chống oxy hóa, polyphenol, trích ly, siêu âm.

1. GIỚI THIỆU

Polyphenol là một nhóm các hợp chất có một hay nhiều nhóm hydroxyl đính trực tiếp lên vòng benzen. Polyphenol là hợp chất có nhiều trong thực vật và nhiều công dụng tốt trong hỗ trợ kháng viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, giảm béo phì (Cory *et al.*, 2018). Hiện chưa có nhiều nghiên cứu công bố về điều kiện trích ly các hợp chất nhóm tổng polyphenol trong cây Dừ dẻ. Nhiều nghiên cứu trước đó về chiết xuất polyphenol từ vỏ Chôm Chôm (Nguyễn *et al.*, 2020), rau má (Chew *et al.*, 2011) hay trái Nhàu (Yin *et al.*, 2010) đã cho thấy các yếu tố như loại dung môi, nhiệt độ và thời gian trích ly là những yếu tố có tác động lớn đến chất lượng của dịch chiết xuất. Các phương pháp trích ly truyền thống như chiết Soxhlet và ngâm thường có ưu điểm đơn giản, nhưng có nhược điểm là tốn chi phí, thời gian, hiệu quả và chất lượng dịch trích thấp. Nghiên cứu của Hoàng Thị Trúc Quỳnh và ctv (2017) cho thấy lá với trích ly bằng phương pháp hỗ trợ sóng

siêu âm cho dịch trích có hàm lượng tổng polyphenol và phần trăm ức chế DPPH cao hơn gấp 1,41 và 1,37 lần so với mẫu chỉ trích ly bằng dung môi. Trong nghiên cứu khác của Phạm Thị Kim Quyên và ctv (2016) đã phát hiện hỗ trợ sóng siêu âm trong quá trình chiết lá Bàu đất đã làm gia tăng hàm lượng polyphenol từ 33,65 lên 48,49 mg GAE/g và giá trị EC₅₀ giảm từ 0,129 xuống 0,144 mg/ml so với mẫu chỉ trích ly bằng dung môi. Tuy nhiên, trong một số báo cáo cũng cho thấy sóng siêu âm có thể làm suy giảm hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa có trong dịch trích (Da Porto *et al.*, 2013). Vì vậy mục tiêu của nghiên cứu này tập trung vào (1) ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết Dừ dẻ và (2) công suất, thời gian xử lý sóng siêu âm trong hỗ trợ trích ly.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Cành và lá cây Dừ dẻ có được thu hái tại tỉnh Phú Yên. Nguyên liệu được rửa sạch để ráo và sấy khô bằng máy sấy khí nóng (Contherm 7100, Newzealand) ở nhiệt độ 50°C đến khi đạt độ ẩm 10% ± 2. Nguyên liệu sau đó được xay, sàng qua rây có kích thước lỗ sàng 0,5 x 0,5 mm. Bột Dừ dẻ được bảo quản trong túi nhôm kín ở nhiệt độ phòng 29-31°C

Hóa chất: Folin-Ciocalteu's, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), axit gallic, 2,2'-azinobis (3-

¹ CH2017, Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

² DH16VT, Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

³ Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

*Email: le.trungthien@hcmuaf.edu.vn

⁴ Khoa Kỹ thuật Khoa học Sinh học, Trường Đại học Ghent, Vương quốc Bỉ

ethylebenzothiaziline-6-sulfonate) (ABTS), axit ascorbic, 2,4,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) (Mecrk KgaA, Đức), Na_2CO_3 , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CH_3COONa , CH_3COOH , HCl , $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, methanol (Xilong Scientific Co., Ltd, Trung Quốc) và ethanol 96% (Chemos, Việt Nam).

2.2. Thiết bị sóng siêu âm



Hình 1. Thiết bị siêu âm Hielscher model UP100H với đầu dò Sonotrode MS7

Các thông số kỹ thuật: thiết bị xử lý siêu âm UP100H kết hợp đầu dò được vận hành cầm tay hoặc để đứng (Hình 1) với công suất cực đại 100 W, tần số siêu âm 30 kHz, biên độ có thể điều chỉnh từ 20 đến 100% so với công suất cực đại, xung điều chỉnh từ 0 đến 100%. Kích thước thiết bị (dài x rộng x cao): 185 x 130 x 85 mm. Đầu dò Sonotrode MS7 được làm bằng Titan với đường kính 7 mm, khoảng chiều dài 80 mm, sợi Nam M6 x 0,75 cho các mẫu từ 10 ml đến 250 ml.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Phương pháp nghiên cứu trọng tâm là phương pháp nghiên cứu thực nghiệm đơn yếu tố để đánh giá ảnh hưởng riêng biệt của từng yếu tố gồm nhiệt độ trích ly, thời gian trích ly, công suất siêu âm và thời gian siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa trên nguyên tắc cho 1 yếu tố biến thiên và cố định 3 thông số còn lại. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ

Thí nghiệm 1 yếu tố là nhiệt độ trích ly. Trong ống ly tâm 50 ml, 1g bột nguyên liệu (đã chuẩn bị trong mục 2.1) được trộn đều với 30 ml ethanol 60%. Quá trình trích ly được thực hiện lần lượt tại các nhiệt độ 40, 50, 60 và 70°C trong bể ổn định nhiệt

(WNB 14, Memmert – Đức). Sau 120 phút, dịch trích được làm lạnh nhanh trong nước đá 15 phút. Mẫu sau đó được ly tâm ở 5.000 rpm trong 5 phút (Z 206 A, Hermle Labortechnik – Đức) và được lọc qua giấy lọc (New Star, $\phi = 90$ mm). Dịch trích thu được ở mỗi nghiệm thức khảo sát được đánh giá hàm lượng tổng polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH, ABTS).

2.3.2. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ

Thí nghiệm 1 yếu tố là thời gian trích ly gồm các mức 1, 2, 3, 4, 5 và 6 giờ. Quá trình trích ly trong thí nghiệm này được thực hiện tương tự mục 2.3.1; trong đó nhiệt độ trích ly là kết quả thí nghiệm mục 2.3.1 và thời gian trích ly được thay đổi theo bố trí thí nghiệm. Dịch trích thu được ở mỗi nghiệm thức khảo sát được đánh giá hàm lượng tổng polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH, ABTS).

2.3.3. Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ

Thí nghiệm 1 yếu tố là công suất của thiết bị siêu âm gồm các mức 0, 20, 40, 60, 80 và 100 (W/g). Trong ống ly tâm 50 ml, 1 g bột nguyên liệu (đã chuẩn bị trong mục 2.1) trộn đều với 30 ml ethanol 60%. Mẫu được xử lý sóng siêu âm bằng thiết bị siêu âm dạng thanh (Hielscher model UP100H, Đức) có đường kính đầu phát sóng là 7 mm (Sonotrode MS7), ở nhiệt độ phòng 29-31°C, trong thời gian 120 giây tại các mức công suất theo bố trí thí nghiệm. Sau đó mẫu được tiến hành trích ly theo quy trình trong mục 2.3.2; trong đó nhiệt độ và thời gian trích ly lần lượt là kết quả thí nghiệm mục 2.3.1 và 2.3.2. Dịch trích thu được ở mỗi nghiệm thức khảo sát được đánh giá hàm lượng tổng polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH, ABTS). Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ.

2.3.4. Ảnh hưởng thời gian siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ

Thí nghiệm 1 yếu tố là thời gian xử lý siêu âm gồm các mức 30, 60, 90, 120, 150 và 180 giây. Quá trình trích ly được thực hiện tương tự mục 2.3.3; trong đó công suất sóng siêu âm là kết quả thí nghiệm mục 2.3.3. Dịch trích thu được ở mỗi nghiệm thức khảo sát được đánh giá hàm lượng tổng

polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa (DPPH, ABTS). Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định độ ẩm trong nguyên liệu

Độ ẩm trong nguyên liệu được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo tiêu chuẩn TCVN 7035 : 2002.

2.4.2. Xác định hàm lượng tổng polyphenol (TPC)

Hàm lượng tổng polyphenol (TPC) được xác định bằng cách sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu's theo phương pháp của Singleton *et al.* (1999) được mô tả bởi Nguyen *et al.* (2020), với một số sửa đổi để phù hợp với điều kiện nghiên cứu. Đường chuẩn được thực hiện với axit gallic ở các nồng độ 0; 3,12; 6,24; 12,52; 25; 50 và 80 mg/L. 1 ml dịch chiết được trộn kỹ với 0,5 ml thuốc Folin-Ciocalteu's 10% và để trong 6 phút, sau đó thêm 1,5 ml Na₂CO₃ 20%. Hỗn hợp được phản ứng 2 giờ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 760nm bằng máy đo quang phổ (UV-VIS, Thermo Spectronic, USA). Hàm lượng tổng polyphenol được biểu thị bằng g GAE/100g vật chất khô (vck).

2.4.3. Hoạt tính chống oxy hóa khử gốc tự do DPPH

Hoạt tính khử gốc tự do của các dịch chiết được đánh giá bằng cách sử dụng diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) theo mô tả của Brand-Williams *et al.* (1995) với một số sửa đổi. Dung dịch DPPH được chuẩn bị bằng cách hòa tan 0,0039g DPPH trong 100 ml methanol nguyên chất. 200µl dịch chiết được phản ứng với 4 ml dung dịch DPPH trong 30 phút, ở điều kiện tối tại nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 517 nm (UV-VIS, Thermo Spectronic, USA). Hoạt tính chống oxy hóa được thể hiện là g AAE/100g vật chất khô (VCK). Đường chuẩn được thực hiện với axit ascorbic ở các nồng độ 0; 2; 4; 8; 16; 20 và 80 mg/L.

2.4.4. Hoạt tính chống oxy hóa khử gốc tự do ABTS

Đối với thử nghiệm ABTS, quy trình được thực hiện theo phương pháp của Re *et al.* (1999) được mô tả bởi Nguyen *et al.* (2020), với một số hiệu chỉnh. Dung dịch ABTS gốc được chuẩn bị bằng cách phối

trộn dung dịch ABTS 7,0 mM với dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM theo tỷ lệ 1:1, hỗn hợp được để ổn định trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Dung dịch ABTS gốc được pha loãng cùng với nước cất đến khi đạt độ hấp thụ là $0,7 \pm 0,02$ ở bước sóng 734 nm trước khi được sử dụng để phản ứng với dịch chiết. 80µl dịch chiết được cho phản ứng với 3,2 ml dung dịch ABTS trong 5 phút ở nhiệt độ phòng tại điều kiện kín sáng. Mẫu được xác định độ hấp thụ ở bước sóng 734 nm. Kết quả được biểu thị là g AAE/100g vck. Đường chuẩn được thực hiện với axit ascorbic ở các nồng độ 0; 2; 4; 8; 16; 20 và 80 mg/L.

2.4.5. Hoạt tính chống oxy hóa FRAP

Phương pháp chống oxy hóa (FRAP) áp dụng theo phương pháp của Benzie và Strain (1996) với một số sửa đổi 150µl dịch trích được phản ứng với 4,5ml thuốc thử FRAP trong 30 phút ở điều kiện tối tại nhiệt độ phòng. Mẫu được phân tích độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 593nm. Thuốc thử FRAP dùng để phản ứng được chuẩn bị bằng cách trộn đều dung dịch đệm acetate (300 mM, pH 4,0), TPTZ (10 mM TPTZ trong 40 mM HCl) và dung dịch FeCl₃ (20 mM FeCl₃.6H₂O trong nước) theo tỷ lệ 10: 1: 1. Đường chuẩn được thực hiện với FeSO₄.7H₂O trong phạm vi 0; 0,0001; 0,0003; 0,0005; 0,0007; 0,001; 0,002; 0,003 mol/l và kết quả được biểu thị bằng g Fe²⁺/100 g VCK.

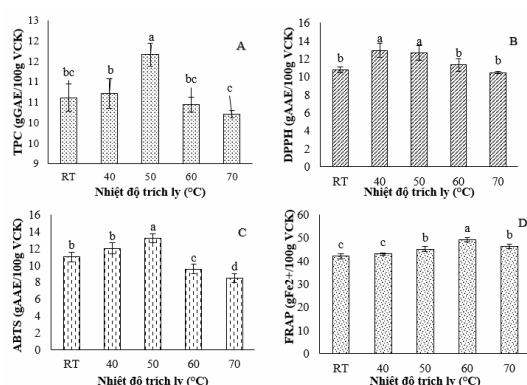
2.5. Thống kê và xử lý số liệu

Các số liệu thí nghiệm được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Các số liệu thu được từ các thí nghiệm được tính toán và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Phân tích phương sai ANOVA và kiểm định mức độ sai khác trung bình giữa các nghiệm thức LSD tại $p < 0,05$, ở mỗi thí nghiệm được thực hiện bằng phần mềm JMP 10.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ

Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ với thời gian trích ly được cố định là 2 giờ. Hàm lượng tổng polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch trích có sự khác biệt giữa các nhiệt độ trích ly ($p < 0,05$) (Hình 2).



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến (A) hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa (B) DPPH, (C) ABTS và (D) FRAP của dịch trích Dủ dẻ

Ghi chú: RT. Nhiệt độ phòng 29-31°C. Các ký tự (a, b, c) khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức trong cùng một chỉ tiêu phân tích tại $p < 0,05$. $N=3$

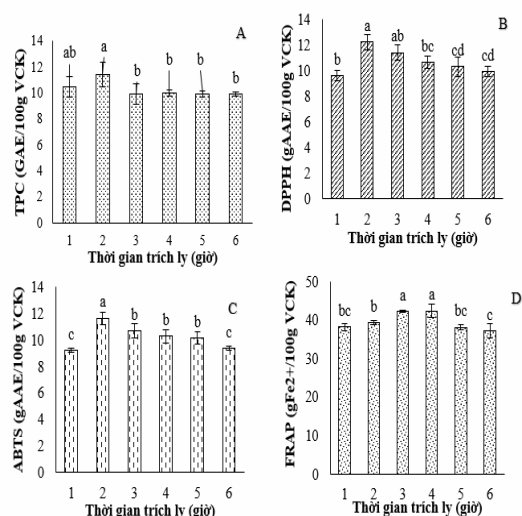
Nhìn chung, nhiệt độ trích ly 50°C cho dịch trích có hàm lượng tổng polyphenol (11,67 g/100g VCK), hoạt tính chống oxy hóa DPPH (12,69 g/100g), ABTS (3,23 g/100g) và FRAP (45,10 g/100g VCK) cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Các chỉ tiêu phân tích này của dịch trích đạt giá trị thấp nhất tại nhiệt độ trích ly 70°C; với giá trị cụ thể tương ứng lần lượt của mỗi chỉ tiêu là 10,21; 10,48; 8,51; 46,34 g/100g VCK. Các nghiên cứu của Chew *et al.* (2011) trên rau má, Yin *et al.* (2010) trên trái Nhàu cho thấy: gia tăng nhiệt độ giúp tăng hiệu quả trích ly hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa.

Nhiệt độ tăng giúp phá vỡ một phần các thành phần của màng tế bào thực vật, nhờ đó làm tăng khả năng thẩm thấu của dung môi qua màng tế bào (Wang *et al.*, 2007); ngoài ra nhiệt độ tăng giúp làm giảm độ nhớt của dung môi, những yếu tố này giúp tăng hệ số khuếch tán của dung môi cũng như độ hòa tan của các hợp chất polyphenol. Một nguyên nhân khác, nhiệt độ tăng giúp giảm các liên kết giữa polyphenol với lipoprotein có trong màng tế bào (Al-Farsi và Lee, 2008), giúp polyphenol dễ dàng thoát ra ngoài dung môi. Trong trường hợp nhiệt độ trích ly cao có thể làm suy giảm khả năng chống oxy hóa của dịch trích ly do sự suy giảm các hợp chất polyphenol (Chan *et al.*, 2003). Từ các kết quả phân tích, nhiệt độ 50°C là phù hợp cho quá trình trích ly cho dịch trích có hàm lượng tổng polyphenol cũng như khả năng chống oxy hóa cao.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ

Thời gian trích ly đóng vai trò quan trọng trong quá trình trích ly polyphenol. Nó không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến chi phí và đặc biệt là chất lượng của dịch chiết. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ với nhiệt độ trích ly được cố định tại 50°C. Kết quả thí nghiệm cho thấy hàm lượng tổng polyphenol có xu hướng tăng từ 10,50 g/100g VCK (1 giờ) lên 11,43 g/100g VCK (2 giờ), sau đó hàm lượng này giảm dần đạt 9,93 g/100g VCK nếu tiếp tục tăng thời gian trích ly lên 6 giờ (Hình 3). Chiều hướng biến đổi này cũng xảy ra tương tự với hoạt tính chống oxy hóa DPPH, ABTS và FRAP, giá trị cao nhất ghi nhận được là 12,22 g/100g VCK (DPPH), 11,64 g/100g VCK (ABTS) tại thời gian trích ly 2 giờ và 42,35 g/100g VCK (FRAP) tại thời gian trích ly 4 giờ. Phụ thuộc vào độ hòa tan, cấu trúc hóa học của hợp chất polyphenol, cũng như sự liên kết của hợp chất này với các thành phần của nguyên liệu, đã ảnh hưởng đến thời gian cần thiết để đạt đến sự cân bằng giữa dung môi trích ly và nguyên liệu trích (Silva *et al.*, 2007).

Giá trị cao nhất của DPPH, ABTS và FRAP ở khoảng thời gian trích ly khác nhau bởi cơ chế phản ứng của các phương pháp chống oxy hóa. Trong nguyên liệu thực vật chứa rất nhiều chất chống oxy hóa, các phương pháp chống oxy hóa của các chất chống oxy hóa trong nguyên liệu thực vật theo cơ chế loại bỏ gốc tự do bằng cách ức chế quá trình peroxy hóa lipid hoặc chelat hóa các ion kim loại (Alothman *et al.*, 2009). Nghiên cứu này thể hiện ưu điểm là sự kết hợp của 3 phương pháp khác nhau để đánh giá hiệu quả chống oxy hóa của dịch trích Dủ dẻ. Thời gian chiết xuất kéo dài tăng khả năng tiếp xúc giữa oxy có trong không khí và oxy hòa tan trong dung môi với các hợp chất chống oxy hóa, do đó làm tăng cơ hội xảy ra quá trình oxy hóa trên các hợp chất polyphenol (Chirinos *et al.*, 2007). Thời gian trích 2 giờ giúp tiết kiệm thời gian, cũng như cho hiệu quả cao trích ly các hợp chất oxy hóa, do đó thông số này được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến (A) hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa (B) DPPH, (C) ABTS và (D) FRAP của dịch trích Dandelion

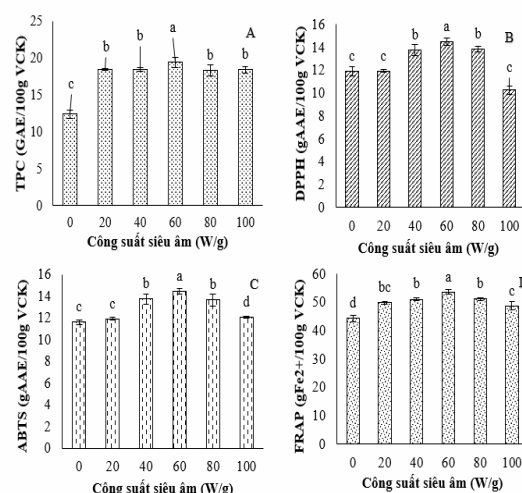
Ghi chú: Các ký tự (a, b, c) khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức trong cùng một chỉ tiêu phân tích tại $p < 0,05$. $N=3$.

3.3. Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dandelion

Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dandelion với nhiệt độ trích ly được cố định tại 50°C, thời gian trích ly là 2 giờ và thời gian xử lý siêu âm là 120 giây. Theo Toma *et al.* (2001) cơ chế siêu âm khai thác hoạt tính sinh học từ thực vật dựa trên hiệu ứng phá vỡ các tế bào thực vật và cải thiện sự khuếch tán, thẩm thấu của dung môi. Kết quả phân tích cho thấy công suất siêu âm ảnh hưởng khác biệt có ý nghĩa về thống kê ($p < 0,05$) đến quá trình trích ly polyphenol từ cây Dandelion. Hình 4 thể hiện hàm lượng tổng polyphenol tăng dần ở mức công suất từ 0 (12,40 g/100g VCK) đến 60 W/g (19,40 g/100g VCK) và giảm dần nếu mức công suất được tăng đến 100W/g (18,42 g/100g VCK).

Hoạt tính chống oxy hóa DPPH, ABTS và FRAP đều đạt giá trị cao nhất ở công suất 60 W/g; giá trị tương ứng lần lượt của mỗi chỉ tiêu là 14,49; 14,43 và 53,63 g/100g VCK. Hiệu quả của sóng siêu âm trong hỗ trợ trích ly các hợp chất nhóm tổng polyphenol cũng đã được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đó của Naif *et al.* (2016) trích ly bã cà phê hay Oroian

et al. (2020) trích ly phần hoa. Các kết quả các nghiên cứu này cho thấy hiệu quả trích ly tăng ở công suất siêu âm nhất định nếu tiếp tục tăng công suất thì hiệu quả trích ly giảm. Công suất siêu âm 60 W/g cho dịch trích Dandelion dễ có hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa cao hơn các mức công suất còn lại.



Hình 4. Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến (A) hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa (B) DPPH, (C) ABTS và (D) FRAP của dịch trích Dandelion

Ghi chú: $N=3$. Trong cùng một chỉ tiêu phân tích các giá trị có cùng ký tự (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.4. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dandelion

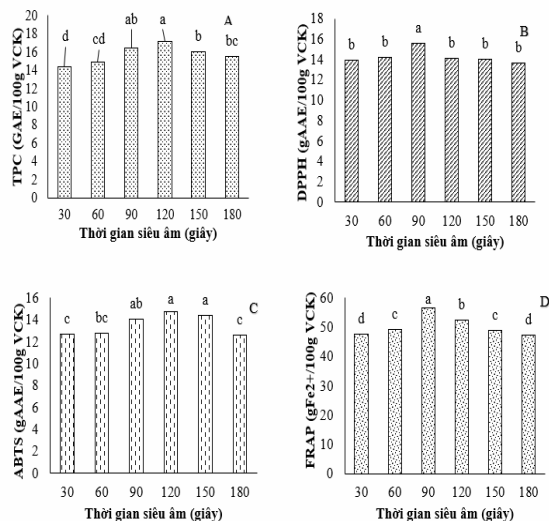
Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích Dandelion với nhiệt độ trích ly 50°C, thời gian trích ly 2 giờ và công suất 60 W/g được lấy cố định. Hàm lượng tổng polyphenol đạt giá trị cao nhất tại thời gian xử lý 120 giây (17,20 g/100g VCK) và đạt giá trị thấp nhất tại thời gian xử lý 30 giây (14,41 g/100g VCK). Khả năng chống oxy hóa DPPH và FRAP của dịch trích đều đạt giá trị cao nhất tại thời gian xử lý 90 giây, giá trị ABTS đạt cao nhất tại thời gian siêu âm 90-150 giây (Hình 5).

Nhìn chung, hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích có xu hướng tăng dần khi tăng thời gian siêu âm từ 0 đến 120 giây và sau đó giảm khi tiếp tục kéo dài thời gian siêu âm lên

150 giây và 180 giây. Xu hướng tương tự đã được ghi nhận trong nghiên cứu của Nguyen *et al.* (2020). Nguyên nhân của hiện tượng này là do khi gia tăng thời gian siêu âm làm cho hiện tượng xâm thực khí diễn ra lâu hơn, nhờ đó tế bào của nguyên liệu bị phá vỡ nhiều hơn nên lượng chất chiết thu được nhiều hơn. Nếu tiếp tục kéo dài thời gian xử lý siêu âm thì hiệu suất thu hồi thay đổi không có ý nghĩa thống kê hoặc bị giảm (Toma *et al.*, 2001). Từ các kết quả phân tích, thời gian xử lý siêu âm trong 90 giây giúp dịch chiết thu được hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa cao, cũng như tiết kiệm thời gian, năng lượng cho quá trình trích ly.

Kết quả phân tích cho thấy, xử lý siêu âm ở công suất 60W/g trong 90 giây, mẫu trích ly chỉ cần 105 phút để đạt giá trị hàm lượng tổng polyphenol (17,63 g/100 g VCK) và hoạt tính chống oxy hóa (15,41 g/100 g VCK; 15,17 g/100g VCK và 50,97 g/100g VCK) tương đương với mẫu được trích ly trong thời gian 120 phút, không xử lý siêu âm (17,10 g/100 g VCK; 16,70 g/100 g VCK; 14,77 g/100 g VCK và 50,63 g/100 g VCK).

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ (40-60°C), thời gian trích ly (60-120 phút), công suất siêu âm (60-80 W/g) và thời gian siêu âm (90-150 phút) cho dịch chiết cây Dẻ để đạt hàm lượng tổng polyphenol cũng như hoạt tính chống oxy hóa cao.



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến (A) hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa (B) DPPH, (C) ABTS và (D) FRAP của dịch chiết Dẻ

Ghi chú: N=3. Trong cùng một chỉ tiêu phân tích các giá trị có cùng kí tự (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy với sự hỗ trợ của sóng siêu âm trong quá trình trích ly đã cho hiệu quả cao hơn so với phương pháp trích ly bằng dung môi không hỗ trợ sóng siêu âm. Đã xác định được các điều kiện thích hợp cho quá trình trích ly hợp chất polyphenol từ cây Dẻ với sự hỗ trợ của sóng siêu âm như dung môi EtOH 60% (v/v), nhiệt độ trích ly 50°C, thời gian trích ly 2 giờ, công suất siêu âm 60 W/g, thời gian xử lý siêu âm 90 giây. Tại các điều kiện này hàm lượng tổng polyphenol và các hoạt tính chống oxy hóa đều đạt giá trị cao, điển hình như hàm lượng tổng polyphenol (17,20 g/100g VCK) tăng 77,38% so với phương pháp trích ly dung môi không hỗ trợ sóng siêu âm (13,31 g/100g VCK). Do kết quả nghiên cứu thực nghiệm đơn yếu tố với chức năng khảo sát quy luật biến thiên của các yếu tố và lựa chọn được khoảng nghiên cứu thích hợp mà ứng với nó thì các chỉ tiêu: Hàm lượng tổng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết đạt giá trị tương đối tốt làm cơ sở cho nghiên cứu thực nghiệm đa yếu tố (tối ưu hoá) ở nghiên cứu tiếp theo.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ dự án VLIR-UOS (VN2018TEA478A 103).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Al-Farsi M., and Lee C. Y., 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food chemistry* 108(3): 977-985.
2. Alothman M., Rajeev B., Karim A. A., 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* 115 (2009) 785 - 788.
3. Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239, 70 - 76.
4. Brand-Williams W., Cuvelier M.-E. and Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25 - 30.

5. Chan S.C., Ko H.H., Lin C.N., 2003. New prenylflavonoids from *Artocarpus communis*. *Journal Natural Products* 66(3): 427 - 430.
6. Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M. and Mattei, J., 2018. The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review. *Frontiers in nutrition*, 5, 87.
7. Chew K. K., Ng S. Y., Thoo Y. Y., Khoo M. Z., Wan Aida W. M. and Ho C. W., 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. *International Food Research Journal* 18 (4): 571-578.
8. Chirinos R., Campos D., Rogez H. and Pedreschi R., 2007. Optimization of extraction oxidantional phenolic compound from Mashua (*Tropaelum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology* 55(2): 217-255.
9. Da Porto, C., Porretto, E. and Decorti, D., 2013. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics sonochemistry*, 20 (4), 1076-1080.
10. Hoàng Thị Trúc Quỳnh, Nguyễn Thị Minh Thôi và Trần Thị Thu Hương, 2017. Đánh giá khả năng trích ly polyphenol từ lá vối (*Cleistocalyx operculatus*) bằng phương pháp siêu âm và xử lý bằng enzyme cellulase. Tạp chí Khoa học – Trường Đại học Văn Hiến, tập 5, số 4, trang 100-105.
11. Naif A. A. D., Karuppiah P., Prakash M., 2016. Development and Validation of Ultrasound-Assisted Solid-Liquid Extraction of Phenolic Compounds from Waste Spent Coffee Grounds, *Ultrasonics Sonochemistry*: 05.005.
12. Nguyen N. M. P., Le, T. T., Dang, M. Q., Van Camp, J. and Raes, K., 2020. Selection of extraction conditions of phenolic compounds from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel. *Food and Bioproducts Processing*.
13. Oroian, M., Ursachi, F., & Dranca, F. (2020). Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Crude Pollen. *Antioxidants*, 9(4), 322.
14. Phạm Thị Kim Quyên, Nguyễn Văn Minh và Nguyễn Thế Hân, 2016. Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa của dịch chiết lá bầu đất (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) trồng tại Khánh Hòa. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, tập 14, số 8, trang 1248-1260.
15. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231–1237.
16. Silva E. M., Rogez H. and Yvan L., 2007. Optimization of extraction of phenolics from Inga edulis leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology* (SEP PURIF TECHNOL 55(3):381-387.
17. Singleton V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology* (edited by J. Abelson, M. Simon). Pp. 152–178. London, UK: Academic Press.
18. Toma M., Vinatoru M., Paniwnyk L. and Mason T.J., 2001. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 8, 137 - 142.
19. Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2007). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106 (2), 804-810.
20. Yin Y. T., Swee K. H., Jia Y. L., Chun W. H. and Chin P. T., 2010, Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*), *Food Chemistry* 120: 290 - 295.

**EFFECTS OF ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF POLYPHENOL COMPOUNDS
FROM *Anomianthus dulcis***

**Do Duy Tan, Nguyen Thi Ngoc Han, Trinh Ngoc Thao Ngan,
Katleen Raes, Hoang Quang Binh, Le Trung Thien**

Summary

Polyphenols were the natural antioxidant compounds with many benefits for human health. This study assessed the impact of factors such as temperature, extraction time, the ultrasound power, and timely treatment on the extraction abilities of polyphenol compounds from *Anomianthus Dulcis*, as well as antioxidant capacity (DPPH, ABTS and FRAP) of extract. The result of experimental research has shown that the sample was extracted at 50 deg C for 2 hours with the ultrasound assisted at power 60 W/g for 90 seconds gave the extract had total phenolic content highest (17.20 g GAE/100g dm) as well as antioxidant capacity DPPH (14.41 g AAE/100g dm), ABTS (14.71 AAE/100g dm) and FRAP (52.31 g Fe²⁺/100g dm).

Keywords: *Anomianthus dulcis*, *antioxidants capacity*, *total phenolic contents*, *utrasound*.

Người phản biện: PGS.TS. Trần Như Khuyến

Ngày nhận bài: 30/12/2020

Ngày thông qua phản biện: 01/2/2021

Ngày duyệt đăng: 8/2/2021