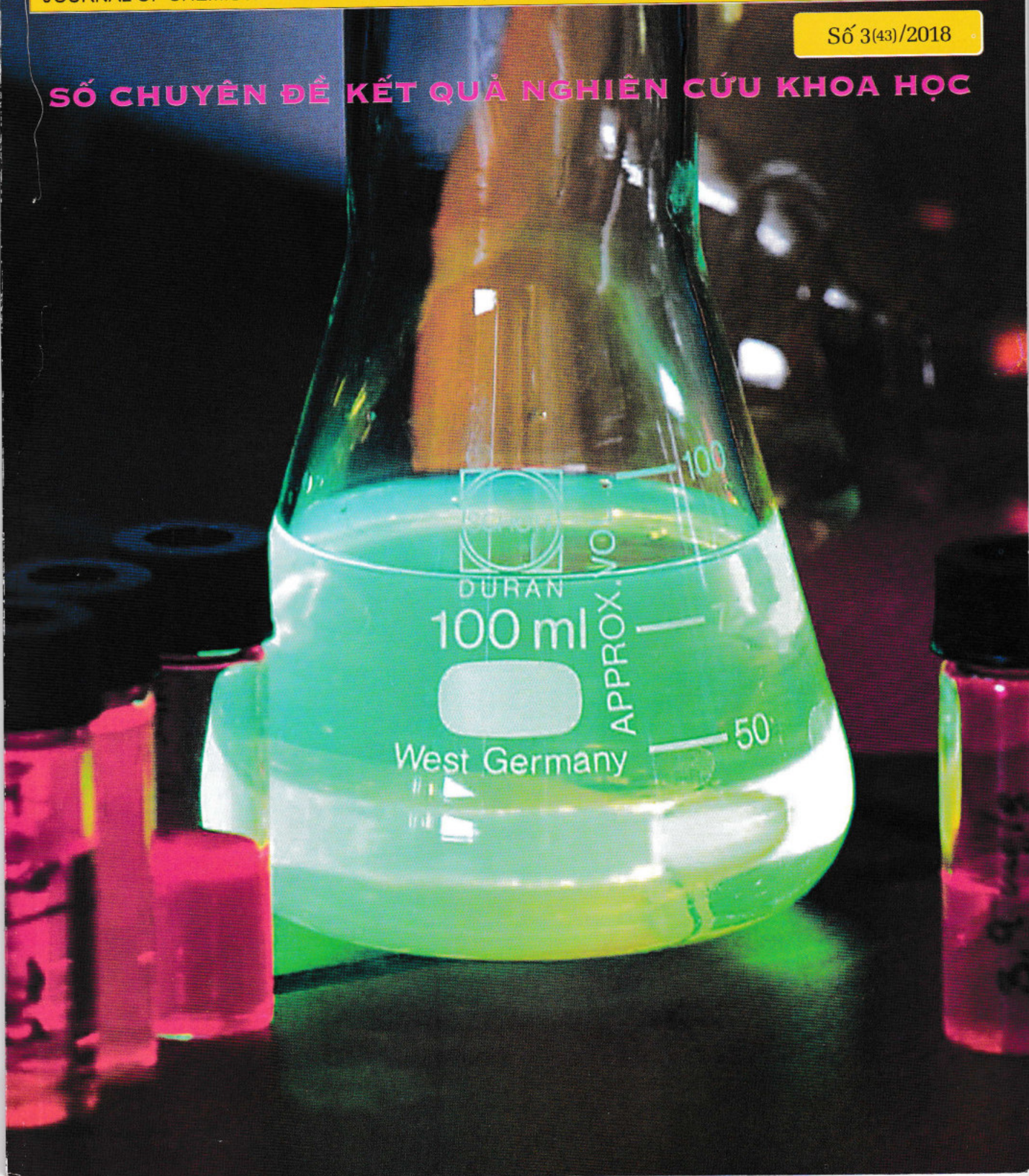


HÓA HỌC & ỨNG DỤNG

JOURNAL OF CHEMISTRY AND APPLICATION / TẠP CHÍ CỦA HỘI HÓA HỌC VIỆT NAM - ISSN1859-4069

Số 3(43)/2018

SỐ CHUYÊN ĐỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHOA HỌC



HÓA HỌC VÀ ỨNG DỤNG

JOURNAL OF CHEMISTRY AND APPLICATION

TẠP CHÍ CỦA HỘI HÓA HỌC VIỆT NAM

ISSN

1859-4069

2 tháng/số

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

NGUYỄN CƯỜNG, NGUYỄN ĐỨC CHUY,
TRẦN THÀNH HUẾ, LÊ QUỐC KHÁNH,
CHÂU VĂN MINH, ĐẶNG VŨ MINH,
TRẦN TRUNG NINH, NGUYỄN ĐĂNG
QUANG, HỒ VIẾT QUÝ, CHU PHẠM NGỌC
SƠN, TRẦN QUỐC SƠN, HỒ SĨ THOẢNG,
NGÔ THỊ THUẬN, QUÁCH ĐĂNG TRIỀU,
NGUYỄN XUÂN TRƯỜNG

Tổng Biên tập:

PGS, TS, NGŨT NGUYỄN ĐĂNG QUANG

Phó Tổng Biên tập - Thư ký tòa soạn:

NGUYỄN HỮU ĐỨC

Trình bày:

TRẦN THỊ HOA

Tòa soạn:

164 đường Tựu Liệt

xã Tam Hiệp, huyện Thanh Trì, Hà Nội

ĐT/Fax: (024) 3971 9078

Email: tapchihoahocvaungdung@gmail.com

Giấy phép xuất bản:

Số 319/GP-BTTTT

Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 14/06/2016

In tại Công ty TNHH in ấn Đa Sắc
13 Ngọc Mạch - Xuân Phương
quận Nam Từ Liêm - Hà Nội

Giá: 30.000 đồng

Số chuyên đề

3(43)/2018

- ✧ Võ Tuấn Anh, Phạm Đỗ Thanh Thùy
Nguyễn Hữu Đức, Vũ Thị Thu Hà 1
- ✧ Trần Thị Hiền, Lê Huệ Hương
Phạm Hữu Thiện, Nguyễn Đình Thành 5
- ✧ Nguyễn Văn Tuấn, Vũ Hồng Thái 12
- ✧ Phạm Minh Tú, Phạm Đỗ Thanh Thùy
Vũ Thị Thu Hà, Nguyễn Bích Ngọc, Âu Thị Hằng 16
- ✧ Trương Đình Đạo, Nguyễn Mậu Vương
Trần Quang Phát, Nguyễn Khắc Phương Hóa 21
- ✧ Võ Thị Bích Ngân, Vũ Thị Ngọc Minh 26
- ✧ Võ Hồng Phương, Phạm Thanh Huyền 30
- ✧ Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Thị Huyền 35
- ✧ Phan Thị Kiều, Trần Trung Ninh 38
- ✧ Võ Văn Tân, Nguyễn Thị Việt Khánh, Phạm Thị Nhiều 41
- ✧ Lê Thị Thúy Phượng, Nguyễn Thị Hồng Yến 45
- ✧ Trần Thị Hiền, Lê Huệ Hương, Nguyễn Đình Thành 49
- ✧ Trịnh Đức Công, Đinh Gia Thành, Phạm Thị Thu Hà
Đỗ Công Hoan, Ngô Thị Hằng 56
- ✧ Lê Thế Tâm, Trần Phương Chi
Phan Thị Dung, Trương Thị Bình Giang 60
- ✧ Nguyễn Trường Quân, Võ Thị Thanh Tâm,
Cao Thế Hà, Lê Văn Chiểu, Nguyễn Thị Hoàng Hà 64
- ✧ Trịnh Đức Công, Nguyễn Thị Thức
Nguyễn Văn Khôi, Nguyễn Trung Đức, Lưu Thị Xuyên 67
- ✧ Trần Thu Hương, Lê Huyền Trâm, Trần Thị Minh
Nguyễn Văn Thông, Nguyễn Hoàng Minh
Trần Duy Thành, Trần Thu Hà 71
- ✧ Trần Trung Ninh, Hồ Phạm Thanh Phước 74
- ✧ Huỳnh Gia Bảo 77

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY CHLOROPHYLL TRONG LÁ CHÈ XANH (*CAMELLIA SINENSIS* L.)

LÊ THẾ TÂM¹, TRẦN PHƯƠNG CHI¹

PHAN THỊ DUNG², TRƯƠNG THỊ BÌNH GIANG³

¹Viện CN Hóa Sinh Môi trường, Trường Đại học Vinh

²Khoa Trung học cơ sở, Trường Cao đẳng Sư phạm Nghệ An

³Viện Sư phạm Tự nhiên, Trường Đại học Vinh

SUMMARY

This study was carried out to optimize extraction condition of chlorophyll from tea leaf. To obtain this goal, we used a response surface methodology to optimize extracting conditions of chlorophyll. Three main factors affecting on chlorophyll extraction conditions from tea leaf were investigated, including: solvent concentration, time, solvent volume. Research results showed that the optimal extraction conditions of chlorophyll from tea leaf obtained as follow: a solvent concentration of 83,20 %, time of 22,5 hours, a solvent volume of 53ml. At optimal extraction conditions, chlorophyll content achieved 23,83 (µg/l).

Keywords: optimization, tea leaves, chlorophyll, response surface methodology.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chlorophyll là một sắc tố màu xanh lá cây được tìm thấy trong hầu hết tất cả các thực vật, tảo và vi khuẩn cyanobacteria. Đây là sắc tố chịu trách nhiệm cho quá trình quang hợp ở thực vật. Cấu trúc hoá học của chlorophyll là gần giống hemoglobin ở máu người, cũng gồm 4 nhóm heme gắn với một nguyên tố kim loại, ở người là nguyên tố sắt, còn ở thực vật và tảo, nguyên tố magnesium thay thế cho nguyên tố sắt. Người ta còn gọi chất diệp lục (chlorophyll) là máu của thực vật [1-4].

Chlorophyll có những ứng dụng khác nhau trong y học, công nghiệp. Trong y học, chlorophyll được chú ý nhiều như một thành phần cơ bản cho khẩu phần ăn kiêng chữa bệnh và như là chất chữa bệnh. Chlorophyll ức chế phát triển của vi khuẩn, kích thích việc phục hồi các mô đã bị hư hại và bảo vệ con người khỏi các chất gây ung thư [3]. Chlorophyll và các dẫn xuất còn được

sử dụng như là chất cảm thụ ánh sáng để diệt các tế bào ung thư và chống virus, chất kháng bổ thể, chất chữa vết thương và khử mùi hôi...

Ở nước ta, cây chè là một trong những cây trồng mũi nhọn của các vùng trung du, miền núi. Đây là nguồn nguyên liệu dồi dào để sản xuất chất màu, có thể sử dụng từ lá chè tươi, lá chè già, chè đốn cuối vụ, hoặc từ chè cấp thấp, thứ phẩm... của các nhà máy chè. Việc sản xuất chất màu thực phẩm không gây độc hại đối với cơ thể từ nguồn nguyên liệu dễ kiếm, rẻ tiền có ý nghĩa lớn về kinh tế. Hơn nữa, chất màu chlorophyll từ chè không chỉ mang lại màu sắc đẹp thực phẩm mà còn còn có giá trị sinh học cao, có lợi cho sức khỏe người tiêu dùng [5].

Xuất phát từ thực tiễn trên, chúng tôi tiến hành đề tài "Tối ưu hóa điều kiện trích ly chlorophyll trong lá chè xanh (*Camellia sinensis* L.)"

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Lá chè xanh được thu hái tại đồi chè thuộc xã Thanh Tiên, huyện Thanh Chương, Nghệ An. Mẫu thu hái được rửa sạch, để ráo. Thời gian từ lúc thu hái đến lúc xử lý mẫu là 1-2 ngày.

2. Phương pháp nghiên cứu

a. Quy trình tách chiết chlorophyll

Quy trình tách chiết chlorophyll từ lá chè xanh với dung môi ethanol được tiến hành như sau: Lá chè xanh → Rửa sạch, để ráo → Cân (2 gam) → Nghiền nhỏ → Hòa trộn dung môi → Ủ lạnh ở nhiệt độ 4-6°C → Ly tâm 3.500/phút trong 10 phút → Đo độ hấp thụ quang.

b. Xác định hàm lượng chlorophyll

- Các loại chlorophyll a, b có thể ngâm chiết bằng các dung môi hữu cơ như: acetone, ethanol, methanol. Mỗi loại chlorophyll có một phổ hấp thụ ánh sáng đặc trưng với peak hấp thụ riêng. Phần ngâm chiết trong các dung môi được phân tích trên máy so màu tương ứng với các peak đó [6-7].

- Định lượng chlorophyll tổng số theo phương pháp của Zapata Garrido và cộng sự (2006) [3]. Hàm lượng chlorophyll trong ethanol được đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 665nm và 652nm [5,6]. Mẫu trắng là mẫu chỉ chứa dung môi ở nồng độ nhất định. Hàm lượng chlorophyll được tính như sau:

$$[\text{Chl-a}] = 16,29 \times A_{665} - 8,54 \times A_{652}$$

$$[\text{Chl-b}] = 30,66 \times A_{652} - 13,58 \times A_{665}$$

$$[\text{Chl-ab}] = 22,12 \times A_{652} + 2,71 \times A_{665}$$

c. Phương pháp bố trí thí nghiệm tối ưu hóa công đoạn chiết

Trong quá trình tách chiết chlorophyll, chúng tôi chọn 3 yếu tố: nồng độ dung môi (%), thể tích dung môi (ml), thời gian ngâm chiết (giờ) để khảo sát quy hoạch thực nghiệm. Hàm mục tiêu quy hoạch thực nghiệm là hàm lượng chlorophyll (chl-ab) thu được nhiều nhất.

Sau quá trình khảo sát tìm khoảng yếu tố tối ưu cho trích ly, xác định mức biến thiên của các yếu tố theo bảng 1.

Chọn phương pháp qui hoạch trực giao cấp I

Tổ chức thí nghiệm TYT 2^k: Với 2 mức của các yếu tố, k là các yếu tố ảnh hưởng, k = 3.

Chọn mô tả toán học:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$

b_0 : Hệ số tự do

b_{12}, b_{23}, b_{13} : Hệ số tương tác đôi

b_{123} : Hệ số tương tác ba

b_1, b_2, b_3 : Hệ số tuyến tính

Y: Hàm đáp ứng, hàm lượng chlorophyll (chl-ab) thu được so với nguyên liệu (%).

Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần. Kết quả trình bày là giá trị trung bình. Số liệu được phân tích bằng phần mềm thống kê Design-Expert 7.1 (Stat-Ease, Inc, Minneapolis, USA) để phân tích các hệ số hồi quy, bề mặt đáp ứng và tối ưu hóa với thuật toán hàm mong đợi [7-9].

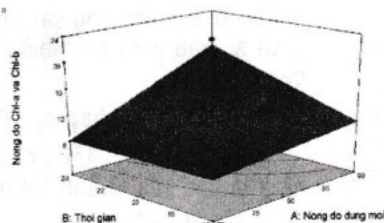
Bảng 1: Xác định các yếu tố và mức biến thiên

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng		
	Nồng độ dung môi (%), (°C) (X_1)	Thời gian, (giờ) (X_3)	Thể tích dung môi (ml) (X_2)
Mức cao (+)	90	24	70
Mức cơ sở (0)	80	20	60
Mức thấp (-)	70	16	50
Khoảng biến thiên	10	10	10

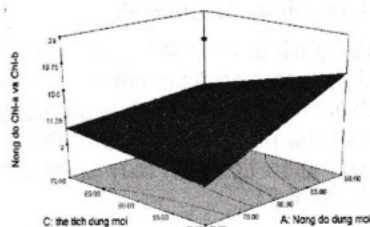
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 2: Hàm lượng chlorophyll trong quá trình tối ưu

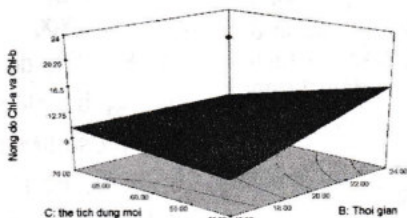
STT	Biến mã			Biến thực			Hàm lượng Chl-ab
	x_1	x_2	x_3	$X_1, \%$	X_2, h	X_3, ml	
1	-	-	-	70	16	50	12,32
2	+	-	-	90	16	50	11,286
3	-	+	-	70	24	50	16,849
4	+	+	-	90	24	50	17,675
5	-	-	+	70	16	70	10,677
6	+	-	+	90	16	70	10,386
7	-	+	+	70	24	70	8,505
8	+	+	+	90	24	70	12,178
9	0	0	0	80	20	60	18,476
10	0	0	0	80	20	60	18,494
11	0	0	0	80	20	60	18,497



Hình 1.a



Hình 1.b



Hình 1.c

Hình 1. Mô hình đáp ứng bề mặt của các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết chlorophyll
 a. Mô hình đáp ứng bề mặt của thời gian và nồng độ dung môi đến quá trình chiết chlorophyll
 b. Mô hình đáp ứng bề mặt của thể tích và nồng độ dung môi đến quá trình tách chiết chlorophyll
 c. Mô hình ứng bề mặt của thể tích dung môi và thời gian đến quá trình tách chiết chlorophyll

Bảng 2: Kết quả phân tích ANOVA tối ưu quá trình tổng hợp các yếu tố

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p prob>F	
Mô hình	220,88	7	31,55	2,760E+0,05	<0,0001	Tin cậy
Nồng độ(X_1)	76,55	1	76,55	6,695E+0,05	<0,0001	Tin cậy
Thời gian(X_2)	24,89	1	24,89	2,177E+0,05	<0,0001	Tin cậy
Thể tích (X_3)	9,7	1	9,70	84876,52	<0,0001	Tin cậy
$X_1 X_2$	33,01	1	33,01	2,887E+0,05	<0,0001	Tin cậy
$X_1 X_3$	40,42	1	40,42	3,5536E+0,05	<0,0001	Tin cậy
$X_2 X_3$	27,64	1	27,64	2,418E+005	<0,0001	Tin cậy
Phần dư	310,31		310,31	2,714E+006	<0,0001	
Sai số thuần	2,287E-004	2	1,143E-004		<0,0001	Tin cậy
Tổng tương quan	531,19	10				

1. Ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm lượng chlorophyll ab

Ảnh hưởng của các nhân tố chiết: nồng độ dung môi (X_1), thời gian ngâm chiết (X_2) và thể tích dung môi (X_3) đến hàm lượng chlorophyll tổng được thể hiện trong bảng 2 và hình 1.a, 1.b, 1.c.

Kết quả cho thấy cả ba nhân tố chiết đều đều có tương tác với nhau và ảnh hưởng đến hàm mục tiêu. Cụ thể thời gian và nồng độ dung môi có tương tác dương đến hàm mục tiêu, trong khi đó, thể tích dung môi tăng quá giá trị tối hạn sẽ làm giảm giá trị chung của hàm

mục tiêu (hình 1a, 1b, 1c).

2. Tối ưu hóa điều kiện chiết

Dựa vào phần mềm thống kê Design-Expert 7.1 (Stat-Ease, Inc, Minneapolis, USA) để phân tích các hệ số hồi quy, bề mặt đáp ứng và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến dịch chiết.

Phân tích sự phù hợp của mô hình và sự có nghĩa của mô hình được đánh giá qua phân tích phần ANOVA và các chỉ số tương quan (bảng 2, bảng 3).

Bảng 2 chỉ ra kết quả phân tích sự phù hợp và có ý nghĩa của mô hình với thực nghiệm Sự có ý nghĩa của các hệ số hồi quy được kiểm định bởi chuẩn F, với các giá trị $p < 0,05$ cho biết các hệ số hồi quy có ý nghĩa. Giá trị "Model-F-value" là 275989,74 giá trị rất lớn nên mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99,99% ($p < 0,0001$).

Ở bảng 3, kết quả phân tích ANOVA cho thấy giá trị R^2 là 0,9999 (R-Squared), chứng tỏ hàm lượng Chlorophyll thu được từ thực nghiệm gần với giá trị dự đoán của mô hình.

Bảng 3: Kết quả phân tích sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm

Thông số	Giá trị	Thông số	Giá trị
Độ lệch chuẩn	0,011	R^2	0,9999
Giá trị trung bình	14,79	R^2 hiệu chỉnh	0,9999
Hệ số biến thiên %	0,072	R^2 dự đoán	0,9987
Tổng bình phương phần dư		Độ chính xác phù hợp	1853,619

Từ các giá trị phân tích có ý nghĩa ở trên, giá trị hàm lượng mong đợi được phần mềm DX7 đưa ra biểu diễn theo phương trình cụ thể sau:

$$Y = 11,54 + 3,09X_1 + 1,76X_2 - 1,1X_3 + 2,0_3X_1X_2 - 2,25X_1X_3 - 1,86X_2X_3 - 1,04X_1X_2X_3$$

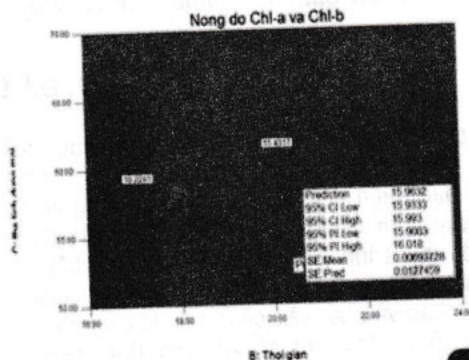
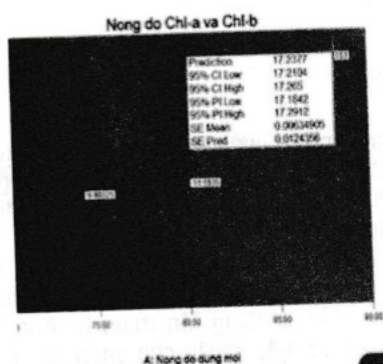
Trong đó :Y là nồng độ chl-ab mong đợi

X_1 là nồng độ dung môi (%).

X_2 là thời gian ngâm chiết (giờ).

X_3 là thể tích dung môi.

Giá trị tối ưu của các yếu tố được phần mềm DX7 phân tích trong miền khảo sát được thể hiện ở hình 2a và 2b.



Hình 2.

- Ảnh hưởng của nồng độ dung môi và thời gian đến nồng độ Chl-ab
- Ảnh hưởng của thời gian và thể tích dung môi đến nồng độ Chl-ab

Qua kết quả phân tích thực nghiệm ta rút ra được điều kiện tối ưu cho quá trình tách chiết chlorophyll để đạt nồng độ cao nhất trong miền khảo sát là:

- Nồng độ dung môi: 83,20%.
- Thời gian ngâm ủ: 22,5 giờ.
- Thể tích dung môi: 53ml

Tại điều kiện chiết như trên, hàm lượng chlorophyll thu được là 23,83 ($\mu\text{g/l}$).

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của ba nhân tố chiết (nồng độ dung môi, thời gian ngâm chiết, thể tích dung môi) đến hàm lượng chlorophyll từ lá chè là $Y = 11,54 + 3,09X_1 + 1,76X_2 - 1,1X_3 + 2,0_3X_1X_2 - 2,25X_1X_3 - 1,86X_2X_3 - 1,04X_1X_2X_3$. Các giá trị tối ưu để chiết chất màu chlorophyll từ lá chè như sau: Nồng độ dung môi: 83,2%; thời gian chiết: 22,5 giờ; thể tích dung môi: 53ml. Tại điều kiện chiết tối ưu, hàm lượng chlorophyll thu được là 23,83 ($\mu\text{g/l}$).

(Xem tiếp trang 81)

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG....

(Tiếp theo trang 25)

So sánh phổ và nhiệt độ nóng chảy của axit picric do nhiệm vụ tổng hợp và trên thế giới ta thấy axit picric tổng hợp được đạt chất lượng theo yêu cầu.

IV. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất tổng hợp acid picric ở quy mô 500g/mẻ, đã chỉ ra các điều kiện thích hợp để tổng hợp acid picric là: điều kiện nhiệt độ duy trì quá trình nitro hóa là 95-100°C, nồng độ acid nitric dùng để nitro hóa là 80% và tỷ lệ mol giữa acid nitric và phenol là 1 : 5; thời gian nitro hóa là 180 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Giang. *Thí nghiệm hóa học hữu cơ và tổng hợp hữu cơ*, Học viện KTQS, Hà Nội 1998.
2. Nguyễn Tiến Nghi. *Hóa học và công nghệ sản xuất thuốc nổ phá*, Học viện Kỹ thuật Quân sự, Hà Nội, 2012.
3. Urbanski T (1964), *Chemistry and Technology of Explosive*, Vol I, Warszawa.
4. E. Ю. Олорва, *Химия и технология бризантных взрывчатых веществ*, Ленинградское отделение 1981. ♣

Người phản biện: TS NGUYỄN MINH TUẤN

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN...

(Tiếp theo trang 63)

Những phát hiện của chúng tôi chỉ ra tiềm năng sử dụng nguồn lá chè phụ phẩm như một nguồn chiết xuất chất màu tự nhiên ứng dụng trong công nghệ thực phẩm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rehni A K, Pantlya H S, Shri R, Singh M. *Effect of chlorophyll and aqueous extracts of Bacopa monniera and Valeriana wallichii on ischaemia and reperfusion-induced cerebral injury in mice*. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2007; 45: 764-769.
2. Stahl W, Sies H. *Bioactivity and protective effects of natural carotenoids*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005; 1740: 101-107.
3. Porra, R. J. (2006) *Spectrometric Assay for plant, Algal and Bacterial Chlorophylls*. *Advances in Photosynthesis and Respiration*, 25, 95-107.
4. Rodríguez M, Mantell C, Macías-Sánchez M D, Martínez de la Ossa E. *Supercritical extraction of food pigments with antioxidant activity*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2008; 7(8): 3259-3269.

5. Lichtenthaler H K, Buschmann C. *Extraction of Photosynthetic Tissues: Chlorophylls and Carotenoids*. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F4.2.1-F4.2.6., 2001.
6. Lichtenthaler H K, Buschmann C. *Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy*. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F4.3.1-F4.3.8., 2001.
7. Porra J P. *The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b*. *Photosynthesis Research*, 2002; 73: 149-156.
8. Hosikian A, Lim S, Halim R, Danquah M K. *Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects*. *International Journal of Chemical Engineering: Article ID 391632*, 11 pages, 2010.
9. Su S, Zhou Y, Qin J G, Yao W, Ma Z. *Optimization of the method for Chlorophyll extraction in aquatic plants*. *Journal of Freshwater Ecology*, 2010; 25(4): 531-538. ♣

Người phản biện: PGS, TS PHAN THỊ HỒNG TUYẾT