

HÓA HỌC & ỨNG DỤNG

The cover features a vibrant blue background with a high-speed photograph of water being poured from a glass pitcher into a glass containing ice cubes. The water is captured in mid-pour, creating a dynamic splash and ripples. The overall aesthetic is clean and scientific.

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

Số 2(30)/2017

SỐ CHUYÊN ĐỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

KHẢO SÁT VÀ TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY POLYPHENOL TRONG LÁ ỔI (*PSIDIUM GUAJAVA L.*)

TRẦN PHƯƠNG CHI, LÊ THẾ TÂM

Khoa Hóa học, Trường Đại học Vinh

SUMMARY

This study was carried out to optimize extraction condition of polyphenols from guava leaf. The results showed that the guava leaf is rich in polyphenols, and it is an important source of phenolic which could be used in medicine and food technologies. Several influencing factors on the polyphenol extraction from guava leaf were optimized such as: temperature, pH and time. The simulation model of the extraction process was determined: $Y = 138,88 + 0,57x_1 - 0,69x_2 + 0,46x_3$. At optimal extraction conditions, polyphenol content achieved 140.97 mgGAE/g of dry weight.

Key words: Antioxidant capacity, extraction, guava leaf, polyphenol, temperature, optimization.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong số các chất chống oxy hóa tự nhiên có trong thực vật, phenolic là nhóm chất chống oxy hóa quan trọng và được phân bố rộng rãi. Hơn 8.000 cấu trúc phenolic đã được tìm thấy, từ các phân tử đơn giản như các acid phenolic đến các chất polyme như tannin. Chúng có ở khắp các bộ phận của cây và vì vậy, chúng cũng là một phần không thể thiếu trong chế độ ăn uống của con người. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy, các hợp chất phenolic có tác dụng bảo vệ trong một số bệnh của con người, ví dụ như ung thư, bệnh tim mạch, hoặc quá trình gây viêm. Cơ chế tác động thường liên quan đến các đặc tính chống oxy hóa tuyệt vời của chúng. Các gốc tự do được hình thành bởi các phản ứng oxy hóa có thể được ổn định bởi cấu trúc liên hợp ở mức độ cao của các dẫn xuất phenolic, do đó, các phân tử sinh học như chất béo, protein, DNA được ngăn chặn triệt để sự tấn công từ các gốc tự do và quá trình

oxy hóa tiếp theo. Nói chung, tổng hàm lượng phenolic là tương quan với các đặc tính chống oxy hóa của chúng [1] [5].

Trong dân gian, lá ổi được sử dụng để chữa nhiều bệnh như tiêu chảy, sát khuẩn, chữa lành vết thương... Vì trong lá ổi có chứa các hợp chất được liệt kê như polyphenol, carotenoid, flavonoid và tannin có tác dụng tăng cường sức khỏe và được nghiên cứu làm thực phẩm chức năng giảm cân, giảm cholesterol, hỗ trợ trị chữa bệnh tiểu đường, bệnh tiểu hóa... Với một nguồn nguyên liệu ổi rất phong phú ở Việt Nam, việc khảo sát và tối ưu hóa điều kiện trích ly polyphenol trong lá ổi và nghiên cứu các hợp chất kháng oxy hóa có nguồn gốc từ lá ổi hy vọng sẽ góp phần ứng dụng trong y dược và thực phẩm chức năng có giá trị cao, có lợi cho sức khỏe.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Lá ổi được thu hái ở xã Diễn Đồng, huyện Diễn Châu, tỉnh Nghệ An. Mẫu thu hái về được rửa sạch, để ráo, đem sấy khô ở 50°C trong 3 giờ, đem nghiền nhỏ và bảo quản ở -20°C.

2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp chiết polyphenol

Quá trình chiết mẫu được tiến hành theo phương pháp của Ismail và cộng sự [3]: Cân 1 gam lá ổi khô nghiền nhỏ → Thêm dung môi (ethanol 70%) → Lắc ($v = 200$ vòng/phút) → Lọc lấy dịch → Ly tâm (4.000 vòng/phút, $t = 10$ phút) → Hút dịch trong đem phân tích.

Xác định hàm lượng polyphenol của dịch chiết bằng phương pháp Folin-Ciocalteu.

b. Phương pháp tối ưu hóa thực nghiệm [7]

Trong trích ly polyphenol, theo các nghiên cứu trước thì 3 yếu tố: nhiệt độ, thời gian, pH, chúng tôi chọn 3 yếu tố này để khảo sát quy hoạch thực nghiệm. Nhưng trước hết, cần dò tìm khoảng yếu tố tối ưu cho trích ly.

Hàm mục tiêu quy hoạch thực nghiệm là hàm lượng polyphenol được nhiều nhất (mg GAE/ gam chất khô). Các thông số về tỉ lệ dung môi được giữ cố định ở mức tối ưu đã khảo sát trước.

Chọn phương pháp qui hoạch trực giao cấp II

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:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3$$

Trong đó:

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 polyphenol thu được so với nguyên liệu (%).

Dựa vào kết quả thực nghiệm và bảng quy hoạch thực nghiệm ta tính được các b_i theo công thức:

$$b_i = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N x_j y_j$$

Các hiệu ứng tương tác cũng được xác định tương tự như những hiệu ứng tuyến tính. Các hệ số b_i được kiểm tra sự tương thích theo chuẩn Student. Viết lại phương trình hồi quy. Kiểm tra sự tương thích của phương trình so với thực nghiệm theo tiêu chuẩn Fisher.

Tối ưu hóa hàm mục tiêu bằng phương pháp dốc đứng của Box và Wilson.

Gồm các bước:

- Chọn bước chuyển động δ_i của các yếu tố có $\Delta_i, b_{i\max}, \delta_i = (0.3+0.7) \cdot \Delta_i$

- Bước chuyển động của các yếu tố còn lại được tính theo công thức sau:

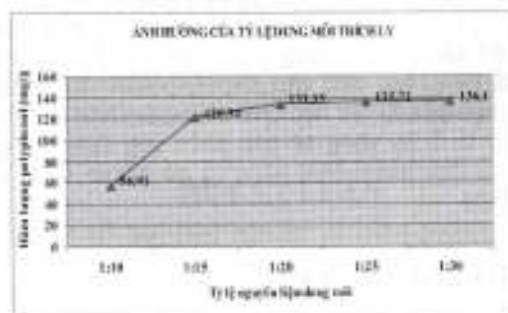
$$\delta_j = \delta_i \frac{b_j \Delta_j}{b_i \Delta_i}$$

III. THỰC NGHIỆM, KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến hàm lượng polyphenol

a. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi trích ly

Trích ly là ổn trong điều kiện: dung môi ethanol 70%, nhiệt độ phòng, pH = 6, thời gian 1 giờ. Kết quả thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi trích ly đến hàm lượng polyphenol

Trong quá trình trích ly bằng dung môi thì nhận thấy rằng khi lượng dung môi càng lớn thì hiệu quả trích ly càng tăng do chúng luôn tạo được một sự chênh lệch

nồng độ cần thiết bên trong và bên ngoài môi trường, tức là luôn có động lực cho quá trình.

Khi tăng lượng dung môi sử dụng thì hàm lượng polyphenol tăng thể hiện rõ nhất khi tăng tỉ lệ từ 1 : 10 lên 1 : 15, 1 : 15 lên 1 : 20 và tiếp tục tăng ít ở tỉ lệ 1 : 20 lên 1 : 25, 1 : 25 lên 1 : 30. Ta chọn tỉ lệ 1 : 20 cho các nghiên cứu tiếp theo.

b. Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ trích ly sơ bộ

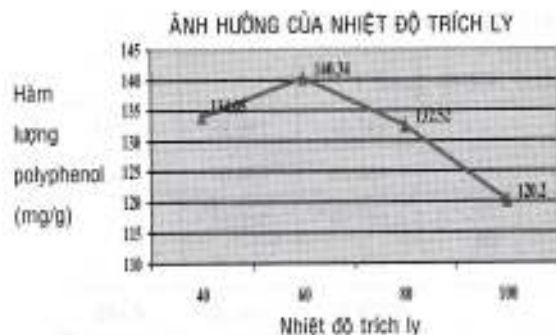
Trích ly là ổn trong điều kiện: dung môi ethanol 70%, pH = 6, thời gian 1 giờ, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1 : 20). Thay đổi nhiệt độ trích ly (°C) từ: 40, 60, 80, 100.

Từ đồ thị ta thấy thấy hàm lượng polyphenol tăng lên khi ta tăng nhiệt độ từ 40°C đến 60°C và giảm khi khảo sát ở 80°C-100°C.

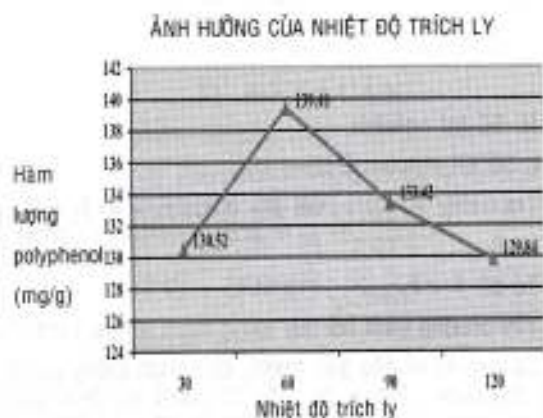
Ở bốn điểm nhiệt độ thì 60°C là điểm nhiệt độ cho hàm lượng polyphenol trích ly cao nhất. Do đó chúng tôi chọn lân cận điểm này tức là nhiệt độ từ 50°C-70°C cho khảo sát quy hoạch thực nghiệm.

c. Khảo sát thời gian trích ly sơ bộ

Trích ly là ổn trong điều kiện: dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1 : 20), nhiệt độ trích ly (60°C). Thay đổi thời gian trích ly từ 30, 60, 90, 120 phút.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hàm lượng polyphenol



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng polyphenol

Hàm lượng polyphenol thu được cũng chịu ảnh hưởng của yếu tố thời gian. Quá trình trích ly cần thời gian để dung môi xâm nhập vào trong vách tế bào của nguyên liệu, sau đó hòa tan các hợp chất cần chiết rồi rút chúng ra ngoài. Nhìn chung, trong một giới hạn nhất định, thời gian chiết càng dài, hàm lượng polyphenol tổng số của dịch chiết càng lớn. Tuy nhiên nếu thời gian quá dài sẽ làm tăng nguy cơ oxy hóa polyphenol bởi oxy, dẫn đến làm sẫm màu dịch chiết và giảm hàm lượng polyphenol.

Qua hình 3, ta thấy rằng, khi thay đổi thời gian từ 30 phút đến 60 phút thì hàm lượng polyphenol tăng lên (130,52mg GAE/g mẫu khô lên 139,41mg GAE/g mẫu khô). Từ 90 phút đến 120 phút do thời gian kéo dài làm tăng quá trình oxy hóa polyphenol làm hàm lượng polyphenol giảm từ 133,42mgGAE/g mẫu khô xuống 129,4mg GAE/g mẫu khô.

Ở bốn điểm thời gian thì 60 phút là điểm thời gian cho hàm lượng polyphenol trích ly cao nhất. Do đó chúng tôi chọn lần cận điểm này tức là thời gian từ 50-70 phút cho khảo sát quy hoạch thực nghiệm.

d. Khảo sát pH trích ly sơ bộ

Trích ly lá ổi trong điều kiện: dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1 : 15), nhiệt độ trích ly (60°C), thời gian trích ly 60 phút. Thay đổi pH trích ly từ pH = 1, 2, 3, 4, sử dụng acid citric 20% để điều chỉnh pH trích ly.



Hình 4. Ảnh hưởng của pH trích ly đến hàm lượng polyphenol

Nhìn vào đồ thị ta thấy rằng khi giảm pH từ 4 đến 1 thì hàm lượng polyphenol tổng tăng dần, nhưng giảm pH quá sâu làm giảm hàm lượng polyphenol. Điều này chứng tỏ trong môi trường axit thì khả năng thu nhận polyphenol tăng. Sở dĩ xảy ra điều này là do trong điều kiện pH thấp thì quá trình oxy hóa polyphenol diễn ra chậm và bị ức chế.

Từ đồ thị 4 có thể thấy tại pH = 2 thì polyphenol thu được là cao nhất. Từ pH = 1 đến pH = 2 hàm lượng polyphenol tăng, pH = 2 đến pH = 4 hàm lượng polyphenol giảm. Do đó chọn lần cận điểm này tức là pH từ 1,5-2,5 cho khảo sát quy hoạch thực nghiệm.

2. Tối ưu hoá điều kiện trích ly polyphenol từ lá ổi

Với mục đích của đề tài là trích ly polyphenol từ lá ổi, chúng tôi tiến hành tối ưu hoá điều kiện chiết tách để thu nhận được hàm lượng polyphenol cao nhất.

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

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng		
	Nhiệt độ (°C) (Z ₁)	pH (Z ₂)	Thời gian, (phút) (Z ₃)
Mức cao (+)	70	2,5	70
Mức cơ sở (0)	60	2	60
Mức thấp (-)	50	1,5	50
Khoảng biến thiên	10	0,5	10

Bảng 2: Ma trận thực nghiệm trực giao cấp I, k = 3

STT	x_0	x_1	x_2	x_3	x_1x_2	x_1x_3	x_2x_3	$x_0x_1x_2$	y	y	$(y - \bar{y})^2$
1	+	+	+	+	+	+	+	+	137,97	139,22	1,582
2	+	-	+	+	-	-	+	-	138,89	138,07	0,668
3	+	+	-	+	-	+	-	-	141,10	140,61	0,237
4	+	-	-	+	+	-	-	+	139,41	139,46	0,003
5	+	+	+	-	+	-	-	-	139,00	138,30	0,486
6	+	-	+	-	-	+	-	+	136,89	137,15	0,070
7	+	+	-	-	-	-	+	+	139,76	139,69	0,004
8	+	-	-	-	+	+	+	-	138,05	138,55	0,248

Từ cách chọn phương án và điều kiện thí nghiệm, chúng tôi xác định ma trận thực nghiệm theo biến mã và tiến hành thí nghiệm theo ma trận. Kết quả được ghi ở bảng 2.

Sau khi tính toán chúng tôi thu được phương trình hồi quy:

$$\hat{Y} = 138,88 + 0,57x_1 - 0,69x_2 + 0,46x_3$$

Kiểm định mức ý nghĩa của các hệ số b trong phương trình bằng tiêu chuẩn Fisher (F).

$$S_{\text{đt}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N-1} = \frac{3,27995}{4} = 0,819987$$

$$F = \frac{S_{\text{đt}}^2}{S_{11}^2} = \frac{0,819987}{0,06} = 13,6665$$

N: Số thí nghiệm.

l: Số thí nghiệm ở tâm.

Tra bảng: $F_{(1-p)(f_1, f_2)}$ với $p = 0,05$; $f_1 = 4$; $f_2 = 2$

$$\rightarrow F_{0,05(4,2)} = 19,3 \quad f_1$$

Ta có: $F < F_{(1-p)(f_1, f_2)}$ ($13,6665 < 19,3$)

Vậy phương trình hồi quy tương thích với thực nghiệm.

Cả ba yếu tố đều ảnh hưởng đến hàm lượng polyphe-nol thu được. Trong đó, yếu tố nhiệt độ ảnh hưởng dương nhiều nhất, cần tăng nhiệt độ để có thể thu được hàm lượng polyphenol nhiều hơn. Thời gian ảnh hưởng dương, cần tăng thời gian để thu hàm lượng polyphe-nol nhiều hơn. pH có ảnh hưởng âm ít, do đó cần giảm pH để thu hàm lượng polyphenol nhiều hơn.

Tối ưu hóa thực nghiệm để thu được hàm lượng polyphenol cao nhất.

Tính các bước chuyển động δ_i

Bảng 3: Kết quả tính bước chuyển động δ_i của các yếu tố

Các mức	Các yếu tố ảnh hưởng		
	$Z_1, ^\circ\text{C}$	Z_2, pH	$Z_3, (\text{phút})$
Mức cơ sở	60	2	60
Khoảng biến thiên (Δ_i)	10	0,5	10
Hệ số b_i	0,57	-0,69	0,46
$b_i \Delta_i$	5,7	-0,345	4,6
Bước chuyển động ($\bar{\alpha}_i$)	3,00	-0,18156	2,42105
Làm tròn	3,0	-0,2	2,0

Tổ chức thí nghiệm leo dốc

Bảng 4: Kết quả thí nghiệm theo hướng leo dốc

Thí nghiệm	Các yếu tố			Kết quả Y
	Z ₁ (°C)	Z ₂ (pH)	Z ₃ (phút)	
1 (thí nghiệm tại tầm)	60	2	60	138,24
2	63	1.8	62	140,97
3	66	1.6	64	138,89
4	69	1.4	66	138,26

Từ kết quả thực nghiệm theo hướng leo dốc ở bảng 4, nhận thấy tại thí nghiệm thứ hai cho kết quả tốt nhất. Hàm lượng polyphenol thu được 140,97mgGAE/g chất khô, với điều kiện công nghệ: nhiệt độ 63°C, thời gian 62 phút, độ pH = 1,8.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Hàm lượng polyphenol trong lá ổi là 140,97mg GAE/g chất khô là khá cao nên việc nghiên cứu trích ly polyphenol trong từ lá ổi là có ý nghĩa.

- Một số điều kiện tối ưu để trích ly polyphenol từ lá ổi với dung môi ethanol 70%:

Nhiệt độ trích ly: 63°C

pH trích ly: 1,8

Thời gian trích ly: 62 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Claudia anesini, Graciela E. Ferraro, and Rosana Filip. *Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (Camellia sinensis) in Argentina*. J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 9225-9229.

2. Friedman, M. and Jurgens, H.S. (2000). *Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds* in J. Agric. Food Chem. 48, 2101-2110.

3. Ismail, A, Marjan, Z., Foong, C.W, (2004). *Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables*. Food Chemistry, 87, 581-586.

4. ISO 14502-1: 2005. *Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent*.

5. J. Anitha¹ and Indira A. Jayraaj². *Nutritional and antioxidant evaluation of earth worm power*. International Research Journal of Pharmacy ISSN 2230 - 8407.

6. Meigy Nelce Mailoa, Meta Mahendradatta, Amran Laga, Natsir Djide. *Tannin Extract Of Guava Leaves (Psidium Guajava L) Variation With Concentration Organic Solvents*. International journal of scientific & technology research volume 2, Issue 9, September 2013

7. Nguyễn Minh Tuyển. *Quy hoạch thực nghiệm*, Nxb Khoa học kỹ thuật.

8. Silvia Martinsa, Solange I. Mussattoa, Guillermo Martínez-Avilab, Julio Montanez-Saenzc, Cristóbal N. Aguilarb, Jose A. Teixeiraa. *Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review*. Biotechnology Advances 29 (2011) 365-373.

9. Wilfred Vermerris, Ralph Nicholson. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Pages 1,2. *

Người phản biện: PGS, TS NGUYỄN HOA DU

HOAN NGHÊNH BẠN ĐỌC PHÊ BÌNH BÁO!

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 VIỆT 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, NGUYỄN ĐĂNG QUANG

Phó Tổng Biên tập - Thư ký tòa soạn:

NGUYỄN HỮU ĐỨC

Trình bày:

TRẦN THỊ HOA

Tòa soạn:

139 Lò Đúc - quận Hai Bà Trưng - Hà Nội

ĐT/Fax: (04) 3 9 719 078

Email: tapchihohocvaungdung@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

2(38)/2017

- ❖ Phạm Thị Thu Hoài 1
- ❖ Trần Phương Chi, Lê Thế Tâm 5
- ❖ Trần Thanh Minh, Đinh Quang Khiếu,
Võ Thị Thùy Linh, Nguyễn Thị Anh Thư 10
- ❖ Võ Văn Tân, Hoàng Thị Loan 15
- ❖ Vũ Ngọc Duy, Phạm Thị Vân, Lê Đình Vĩnh 19
- ❖ Trần Thanh Minh, Trần Thị Mỹ Trang
Hoàng Văn Đức, Phan Thế Bình 22
- ❖ Nguyễn Văn Quang, Đào Thị Việt Anh 27
- ❖ Võ Văn Tân, Ngô Xuân Tri 30
- ❖ Đỗ Thị Thu Huyền 34
- ❖ Nguyễn Trí Ngẩn, Nguyễn Xuân Trường 38
- ❖ Phạm Ánh Tuyết, Bùi Thị Hậu
Phạm Thị Thu Phương, Vũ Mạnh Cường 42
- ❖ Ngô Xuân Lương, Hoàng Văn Chính, Đậu Bá Thìn
Nguyễn Thị Hương 46
- ❖ Tạ Anh Tuấn, Tạ Như Quỳnh, Mai Xuân Dũng 49
- ❖ Trần Thị Hồng Vân, Nguyễn Đình Luyện 50
- ❖ Trần Thanh Hoài, Nguyễn Kim Ngà, Hồ Phú Hà 55
- ❖ Lê Cao Khải, Trịnh Văn Tuyên 59
- ❖ Trần Dương, Cao Thị Ái Nhi 63
- ❖ Hoàng Quang Bắc, Mai Văn Tiến 68
- ❖ Nguyễn Văn Quang, Mai Xuân Dũng
Vi Khánh Toàn, Tạ Anh Tuấn 71
- ❖ Phạm Văn Vượng, Lê Thị Ngọc Sương
Trần Thị Thảo, Bùi Đức Minh, Ngô Công Hậu 73