

## MÔ HÌNH HÓA QUÁ TRÌNH CHIẾT POLYPHENOL TỪ VỎ VẢI

### Modelling the Extraction of Phenolics from Litchi Fruit Pericarp

Lại Thị Ngọc Hà<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Hương, Phan Thị Hằng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup>Lớp Bảo quản chế biến A K51, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên lạc: [lnha1999@yahoo.com](mailto:lnha1999@yahoo.com)

#### TÓM TẮT

Hàm lượng polyphenol tổng số, anthocyanin tổng số và khả năng kháng oxi hóa của vỏ vải được xác định. Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol trong vỏ vải cao (96,25 mgGAE/g CK), do vậy có thể là nguồn polyphenol tiềm năng ứng dụng được trong công nghiệp thực phẩm. Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol trong vỏ vải cao (96,25 mgGAE/g CK), do vậy có thể là nguồn polyphenol tiềm năng ứng dụng được trong công nghiệp thực phẩm. Ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ như: nồng độ ethanol, nhiệt độ, pH và thời gian đến hiệu suất thu hồi polyphenol được nghiên cứu. Mô hình mô tả quá trình tách chiết polyphenol từ vỏ vải được xây dựng  $Y = 62745,17 + 3946,87X_1 + 6643,00X_2 - 9949,96X_3 - 1392,63X_1X_2 + 2718,14X_1X_3 + 9880,41X_2X_3$ .

Từ khóa: Chiết, khả năng kháng oxi hóa, mô hình, nhiệt độ, pH, polyphenol, vỏ vải.

#### SUMMARY

The total phenolics, total monomeric anthocyanin and the antioxidant capacity of the litchi pericarp were determined. The results showed that the litchi pericarp is rich in polyphenol (96.25 mgGAE/g DW), and it is an important source of phenolic which could be used in food processing technologies. Several influencing factors on the phenolic extraction from litchi fruit pericarp were studied such as ethanol concentration, temperature, pH and time. The simulation model of the extraction process was determined:  $Y = 62,745.17 + 3,946.87X_1 + 6,643.00X_2 - 9,949.96X_3 - 1,392.63X_1X_2 + 2,718.14X_1X_3 + 9,880.41X_2X_3$

Key words: Antioxidant capacity, extraction, litchi pericarp, model, pH, polyphenol, temperature.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress oxi hóa đặc trưng bởi sự mất cân bằng giữa sản xuất các gốc tự do và hoạt động của các chất chống oxi hóa trong cơ thể được coi là nguyên nhân của rất nhiều bệnh trong đó có ung thư, tim mạch, suy giảm hệ thần kinh (Alzheimer, Parkinson) và lão hóa sớm (Pincemail và Defraigne, 2004; Edeas, 2006). Kết quả nhiều nghiên cứu cho thấy có một mối liên hệ nghịch giữa khả năng xuất hiện các căn bệnh trên và chế độ ăn giàu rau quả. Giải thích hợp lý cho mối liên hệ nghịch này là sự có mặt của các chất chống oxi hóa tự nhiên có trong rau quả. Các chất chống oxi hóa tự nhiên trong rau quả sẽ vô hoạt các gốc tự do khiến chúng không còn khả năng

phá hủy các đại phân tử sinh học (ADN, protein, lipid) và gây bệnh cho cơ thể.

Trong số các chất chống oxi hóa tự nhiên có trong rau quả, polyphenol là nhóm chất rất được quan tâm bởi lẽ polyphenol thể hiện những đặc tính sinh học quý đặc biệt là khả năng chống oxi hóa, chống viêm, chống dị ứng và khả năng kháng khuẩn (Tapiero và cs., 2002; Alberto và cs., 2006). Các polyphenol có tính khử giống vitamine C, khử các gốc tự do và vô hoạt chúng. Ngoài ra, polyphenol làm tăng hiệu quả chống oxi hóa của nhiều chất chống oxi hóa tự nhiên khác như vitamine C, E và các carotenoid. Nhiều kết quả thử nghiệm cho thấy chế độ ăn giàu polyphenol (quả, rau, ngũ cốc nguyên dạng, rượu vang

đỏ, trà) cho phép hạn chế sự xuất hiện stress oxi hóa và các bệnh liên quan (Hung và cs., 2004; Haliwell, 1994). Polyphenol dồi dào trong lá chè giúp người dân châu Á trẻ lâu, khỏe và sống thọ. Polyphenol trong khoai tây màu tím, đỏ trồng trên các cao nguyên Nam Mỹ đã giúp người dân Peru, Bolivia có sức khỏe tốt, tránh được nhiều loại bệnh nguy hiểm.

Việt Nam là nước nhiệt đới gió mùa, hoa trái có quanh năm. Rất nhiều loại cây ăn quả, cây rau, cây thuốc có hàm lượng polyphenol cao hứa hẹn là đối tượng nghiên cứu xác định hoạt tính sinh học, nghiên cứu chế biến các sản phẩm có giá trị kinh tế, sinh học cao như cây ổi, cây vải, cây lựu, cây táo mèo, các loại chè đắng, cây rau diếp cá... Trong số các loại rau quả giàu polyphenol, quả vải có hàm lượng polyphenol cao (cao hơn 15% so với nho) trong đó phần vỏ quả chứa hàm lượng polyphenol khá lớn (80-120 mg GAE/g CK, Ruenroengklin và cs., 2008). Dịch chiết polyphenol từ vỏ vải có tác dụng kìm hãm sự tổng hợp ADN của tế bào ung thư, do đó kìm hãm sự phát triển của khối u (Wang và cs., 2006). Phần vỏ chiếm 15% khối lượng quả vải tươi (Ruenroengklin và cs., 2008) và là phần phế phẩm của công nghệ chế biến vải. Đây hứa hẹn là nguồn nguyên liệu dồi dào cho sản xuất dịch giàu polyphenol ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm và dược phẩm.

Sản xuất dịch giàu polyphenol từ thực vật luôn bắt đầu bằng công đoạn chiết polyphenol và phương pháp chiết bằng dung môi là phương pháp thường được sử dụng nhất. Hiệu quả chiết polyphenol theo phương pháp này phụ thuộc rất nhiều yếu tố: loại dung môi sử dụng, nồng độ dung môi, nhiệt độ chiết, thời gian chiết, pH của dung dịch chiết... (Chirinos và cs., 2007; Silva và cs., 2007; Todaro và cs., 2009; Pompeu và cs., 2009). Không có quy trình tách chiết chung cho tất cả các loại thực vật. Mỗi loại nguyên liệu thực vật khác nhau với đặc điểm cấu tạo khác nhau và thành phần polyphenol khác

nau sẽ chịu ảnh hưởng khác nhau của các yếu tố kể trên và có điều kiện tối ưu để chiết polyphenol. Mục đích của nghiên cứu này là dùng phần mềm toán học mô tả ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu quả chiết polyphenol từ vỏ vải.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu và hóa chất

Vỏ vải được thu tại Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội tháng 6 năm 2009. Vỏ còn tươi, có màu đỏ tươi, được rửa sạch, để ráo nước, đông khô ở nhiệt độ  $-50^{\circ}\text{C}$  bằng máy đông khô trong hai ngày. Sau đó, vỏ khô được nghiền nhỏ và bảo quản ở nhiệt độ  $-23^{\circ}\text{C}$  dưới nitơ khí.

Acid gallic, DPPH (2,2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazyl), thuốc thử Folin – Ciocalteu, Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl-2-carbocyclic acid) của Sigma (Đức). Các dung môi ethanol, methanol, aceton; hóa chất  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , KCl,  $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , acid acetic, acid chlorhydric của Trung Quốc.

### 2.2. Các thí nghiệm khảo sát

Trước khi tiến hành thí nghiệm mô hình hóa, một số thí nghiệm khảo sát được thực hiện để xác định sơ bộ khoảng ảnh hưởng của các yếu tố đến hiệu quả chiết polyphenol từ vỏ vải.

#### 2.2.1. Thí nghiệm khảo sát 1: Ảnh hưởng của loại dung môi

0,2 g vỏ vải dạng bột + 20 ml dung môi nghiên cứu, thời gian lắc 3 giờ với vận tốc lắc 200 vòng/phút, nhiệt độ  $30^{\circ}\text{C}$ , li tâm trong 30 phút với 6000 v/ph. Cất đui dung môi và hòa tan trở lại lên 10 ml bằng nước cất thu được dịch chiết polyphenol. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số của dịch chiết.

#### 2.2.2. Thí nghiệm khảo sát 2: Ảnh hưởng nhiệt độ

0,2 g vỏ vải dạng bột + 20 ml dung môi rút ra từ thí nghiệm khảo sát 1, thời gian

lắc 3 giờ với vận tốc lắc 200 vòng/phút, li tâm trong 30 phút với 6000 vòng/phút. Cát đuối dung môi và hòa tan trở lại lên 10 ml bằng nước cất thu được dịch chiết polyphenol. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số của dịch chiết.

### 2.2.3. Thí nghiệm khảo sát 3: Ảnh hưởng thời gian

0,2 g vỏ vả dạng bột + 20 ml dung môi rút ra từ thí nghiệm khảo sát 1, vận tốc lắc 200 vòng/phút, nhiệt độ 30°C, li tâm trong 30 phút với 6000 vòng/phút. Cát đuối dung môi và hòa tan trở lại lên 10 ml bằng nước cất thu được dịch chiết polyphenol. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số của dịch chiết.

### 2.3. Thí nghiệm mô hình hóa và tối ưu hóa

Thí nghiệm mô hình hóa được tiến hành với 3 yếu tố ảnh hưởng sau: X<sub>1</sub>- Nồng độ ethanol (% v/v); X<sub>2</sub> - Nhiệt độ xử lý (°C); X<sub>3</sub> - pH dung dịch chiết. Khoảng biến đổi của các yếu tố ảnh hưởng được rút ra từ các thí nghiệm khảo sát và dựa trên các tài liệu tham khảo. Hàm mục tiêu Y là hàm lượng polyphenol tổng số thu được từ 1g chất khô vỏ vả (µg GAE/g CK).

Dạng của mô hình:

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

### 2.4. Các phương pháp phân tích hóa sinh

#### 2.4.1. Hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (Singleton và Rossi, 1965). Đưa 500 µl dịch chiết vào ống nghiệm, thêm 250 µl thuốc thử Folin – Ciocalteu 1N, lắc đều sau đó thêm 1250 µl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%. Sau 30 phút, đo độ hấp thụ của hỗn hợp tại 755 nm. Gallic acid được dùng làm chất chuẩn (y = 0,0299x + 0,0095; R<sup>2</sup> = 0,9989). Hàm lượng polyphenol được biểu diễn theo đương lượng acid gallic trong 1 g chất khô vỏ vả (µg GAE/g CK – µg Gallic Acid Equivalent/g chất khô).

#### 2.4.2. Hàm lượng anthocyanin tổng số

Hàm lượng anthocyanin tổng số được xác định bằng phương pháp pH vi sai (AOAC

Method 2005.02). Cho 0,2 g vỏ vả vào 10 ml methanol 80% chứa HCl nồng độ 0,1%. Hỗn hợp được trộn đều và chiết ở 4°C trong 24 giờ. Hỗn hợp sau đó được ly tâm, dịch trong thu được là dịch chiết anthocyanin. Dịch chiết anthocyanin được hòa tan 10 lần trong các dung dịch đệm KCl pH 1 và CH<sub>3</sub>COONa pH 4,5. Đo độ hấp thụ của các dung dịch này tại 520 và 700 nm. Hàm lượng anthocyanin được tính theo công thức sau:

$$TAC \text{ (mg/g)} = A \cdot MW \cdot f \cdot V / m \cdot \epsilon \cdot l$$

Trong đó:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1} - (A_{520} - A_{700})_{pH4.5}$$

f: hệ số pha loãng

l: chiều dày cuvette (cm)

V: thể tích dịch chiết (l)

m: khối lượng vỏ vả (g)

MW = 449,2 g/mol và ε = 26.900 l/mol/cm

là khối lượng phân tử và độ hấp thụ phân tử của cyanidin-3-glucoside (anthocyanin phổ biến trong tự nhiên).

Hàm lượng anthocyanin được biểu diễn bằng mg đương lượng cyanidin-3-glucoside trong 1 g chất khô vỏ vả (mg CGE/g CK- mg Cyanidin-3-Glucoside Equivalent/g chất khô).

#### 2.4.3. Khả năng kháng oxi hóa

Khả năng kháng oxi hóa được xác định bằng phương pháp 1,1 - diphenyl - 2 - picryl hydrazyl radical (DPPH) (Tabart và cs., 2009). 100 µl mẫu được phản ứng với 2900 µl DPPH 0,2 mM pha trong methanol ở 25°C trong 20 phút. Đo độ hấp thụ của hỗn hợp tại 517 nm. Mẫu control được tiến hành tương tự nhưng thay 100 µl dịch chiết bằng nước cất.

% kìm hãm = (A<sub>control</sub> - A<sub>mẫu</sub>) / A<sub>control</sub> \* 100.

Trong đó: A<sub>control</sub> và A<sub>mẫu</sub> là độ hấp thụ tại 517 nm của mẫu control và của dịch chiết.

Trolox – một dẫn xuất của vitamine E được dùng làm chất chuẩn (y = 0,0806x – 0,2453; R<sup>2</sup> = 0,9997). Khả năng kháng oxi hóa được biểu diễn bằng mol đương lượng Trolox trên 1 gam chất khô vỏ vả (mol TE/g CK - mol Trolox Equivalent / g chất khô).

Mô hình hóa bằng phần mềm Nemrowd. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả được xử lý bằng Excel 2003 và SAS 9.0.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Một số chỉ tiêu của vỏ vải nguyên liệu và vỏ vải đông khô

Bột vỏ vải được chiết bằng triple extraction (chiết lần lượt bằng acetone, hỗn hợp methanol : nước : acid acetic, hỗn hợp ethanol : nước : acid acetic). Dịch chiết được cất đuổi dung môi, lên thể tích 10 ml và được dùng để xác định hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng kháng oxi hóa.

Một số chỉ tiêu cụ thể của vỏ vải tươi và vỏ vải nguyên liệu được xác định:

- Tỷ lệ vỏ quả: 13,77% khối lượng quả tươi.
- Hàm lượng chất khô tổng số của vỏ tươi: 27,00%.
- Hàm lượng chất khô tổng số của mẫu đông khô: 93,28%.
- Mẫu đông khô có màu hồng tía và mùi đặc trưng của vỏ vải.
- Hàm lượng polyphenol tổng số của vỏ vải: 96,25 mg GAE/g CK hay 25,99 mg GAE/g vỏ vải tươi.
- Khả năng kháng của oxi hóa của vỏ vải 894,26 mol TE/g CK.
- Hàm lượng anthocyanin của vỏ vải: 0,61 mg cyanidin-3-glucosid/g CK hay 16,47 mg cyanidin-3-glucosid /100g vỏ vải tươi.

Hàm lượng polyphenol cũng như anthocyanin xác định được của vỏ vải thu hái tại Trường Đại học Nông nghiệp lần lượt là 96,25 mg GAE/g CK và 0,61 mg CGE/g CK. Kết quả này gần với các kết quả được công bố trước đây. Ruenroengklin và cs. (2008) xác định hàm lượng polyphenol thu được từ vỏ vải là 80-120 mg GAE/g CK tùy thuộc vào điều kiện tách chiết. Theo Hu và cs. (2010), tổng lượng acid phenolic, flavanoid, proanthocyanin của vỏ vải là 41 - 106 mg/g CK. Hàm lượng anthocyanin của vỏ vải được Duan và cs. (2007) xác định là 18,6 mg/100 g chất tươi.

So với các phế phẩm khác của ngành công nghiệp thực phẩm, vỏ vải có hàm lượng

polyphenol cao hơn bã táo (phế phẩm của công nghiệp sản xuất nước ép táo, 7,16 mg GAE/g) (Sudha và cs., 2007), cao hơn bột bã nho (phế phẩm của công nghiệp sản xuất rượu vang, 2,78 - 5,33 mg/g CK) (Chun Yi và cs., 2009) thấp hơn so với vỏ quả lựu (phế phẩm của chế biến lựu - 140 mg GAE/g CK) (Shabtay và cs., 2008). So với các loại lá cây rừng Amazon hiện đang được quan tâm như nguồn polyphenol dồi dào có hàm lượng polyphenol biến đổi trong khoảng 44,2 - 63,0 mg GAE/g CK (Souza và cs., 2008), vỏ vải có hàm lượng polyphenol cao hơn. Các kết quả này cho thấy, vỏ vải là nguồn polyphenol thực vật dồi dào. Việc tận dụng vỏ vải - một loại phế phẩm của công nghiệp thực phẩm góp phần tăng giá trị kinh tế của cây vải, tạo thêm sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên ứng dụng được trong công nghiệp thực phẩm và công nghiệp dược như chất chống oxi hóa.

#### 3.2. Khảo sát sơ bộ ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu quả chiết polyphenol từ vỏ vải

##### 3.2.1. Ảnh hưởng của dung môi

Hiệu quả chiết polyphenol từ nguyên liệu thực vật phụ thuộc vào loại dung môi sử dụng đặc biệt độ phân cực của dung môi. Việc sử dụng duy nhất dung môi có độ phân cực cao như nước hay các dung môi hữu cơ kém phân cực như hexan hay chloroforme không cho hiệu quả thu polyphenol cao vì thành phần polyphenol thực vật rất đa dạng (phân cực và không phân cực). Không có loại dung môi hay hệ dung môi chuẩn nào dùng chung để tách polyphenol của thực vật. Methanol và hỗn hợp methanol thường được sử dụng trong các thí nghiệm chiết polyphenol (Silva và cs., 2007; Souza và cs., 2008). Các dung môi khác như ethanol, acetone, ethylacetate cũng được sử dụng để chiết polyphenol (Chirinos và cs., 2007).

Tiến hành chiết polyphenol từ vỏ vải bằng methanol, ethanol, hỗn hợp methanol : nước, hỗn hợp ethanol : nước (Bảng 1).

**Bảng 1. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hiệu suất chiết polyphenol từ vỏ vải**

Loại dung môi	Polyphenol tổng số (mgGAE/g CK)	Hiệu suất thu hồi polyphenol (%)
Methanol	41,93 <sup>a</sup>	43,56
Ethanol	19,76 <sup>d</sup>	20,53
Methanol/nước, 70/30, v/v	28,94 <sup>c</sup>	30,07
Ethanol/nước, 70/30, v/v	38,55 <sup>b</sup>	40,05

Các số với các chữ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa 0,05.

\*: Hiệu suất thu hồi = Polyphenol tổng số thu được (mgGAE/g CK)/Polyphenol tổng số của vỏ vải (mgGAE/g CK)\*100

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết polyphenol từ vỏ vải**

Nhiệt độ (°C)	Polyphenol tổng số (mg GAE/g CK)	Hiệu suất thu hồi polyphenol (%)
40	44,74 <sup>b</sup>	46,48
50	60,23 <sup>a</sup>	62,58
60	44,62 <sup>b</sup>	46,36

Các số với các chữ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa 0,05.

\*: Hiệu suất thu hồi = Polyphenol tổng số thu được (mgGAE/g CK)/Polyphenol tổng số của vỏ vải (mgGAE/g CK)\*100

Kết quả xử lý bằng phần mềm SAS9.0 cho ta thấy các loại dung môi khác nhau thì cho khả năng trích ly polyphenol khác nhau ở mức ý nghĩa P = 0,05. Trong đó, methanol là loại dung môi cho khả năng chiết lớn nhất, cho hàm lượng polyphenol tổng số là 41,93 mgGAE/gCK, hiệu suất thu hồi 43,56%, ethanol cho khả năng chiết thấp nhất. Việc thêm nước vào ethanol làm tăng hiệu quả chiết polyphenol từ vỏ vải. Nước thêm vào ethanol cho phép tăng hiệu quả chiết các hợp chất phenol ở dạng glycoside vốn dễ hòa tan trong nước. Xét về mặt hiệu suất thu hồi, việc dùng hỗn hợp ethanol: nước cho kết quả nhỏ hơn so với việc dùng methanol nhưng xét về mặt an toàn, ethanol an toàn hơn cho người sử dụng. Với mục đích sản xuất dịch chiết polyphenol từ vỏ vải ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm và công nghiệp dược, hỗn hợp ethanol: nước được chọn để chiết polyphenol từ vỏ vải và được dùng trong thí nghiệm mô hình hóa.

### 3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng ảnh hưởng không những tới hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng tới chi phí và chất lượng của dịch chiết polyphenol. Nhiệt độ làm giảm độ nhớt trong dung dịch, tăng tốc độ thẩm thấu dung môi vào tế bào và tăng hiệu suất trích ly. Tuy nhiên, tiến hành chiết ở nhiệt độ quá cao thì vừa tốn chi phí ổn nhiệt vừa tăng nguy cơ giảm chất lượng dịch chiết do phản ứng nâu hóa.

Tiến hành chiết polyphenol từ vỏ vải ở các nhiệt độ khác nhau, kết quả được giới thiệu ở bảng 2.

Kết quả xử lý thống kê bằng phần mềm SAS9.0 cho thấy ở mức ý nghĩa P = 0,05, nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng tách chiết polyphenol từ vỏ vải. Nhiệt độ cho hàm lượng polyphenol lớn nhất ở 50°C là 60,23 mgGAE/gCK với hiệu suất thu hồi là 62,58%. Từ 40°C khi nhiệt độ tăng từ 40 đến 50°C, khả năng chiết polyphenol tăng do nhiệt độ cao thúc đẩy sự xâm nhập của dung môi vào nguyên liệu và chiết rút polyphenol. Tuy nhiên khi nhiệt độ tăng lên, phản ứng oxi hóa polyphenol bởi không khí tăng lên do đó lượng polyphenol thu được giảm. Màu của dịch chiết ở 60°C có màu sẫm nhất cho thấy ở nhiệt độ này phản ứng oxi hóa polyphenol vỏ vải xảy ra mạnh nhất.

Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết polyphenol vỏ vải thu được phù hợp với công bố của Todaro và cs. (2009): nhiệt độ ảnh hưởng rất rõ rệt đến hiệu quả chiết anthocyanin từ vỏ quả cà tím; khi nhiệt độ tăng từ 0 đến 40°C, hiệu quả chiết tăng nhưng khi nhiệt độ tăng trên 40°C, lượng anthocyanin thu được giảm. Ruenroengklin và cs. (2008) khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình chiết polyphenol vỏ vải cho thấy khi nhiệt độ tăng từ 40°C đến 60°C, hiệu quả chiết polyphenol tăng nhưng sau đó hiệu quả chiết polyphenol không tăng khi tăng nhiệt độ từ 60°C đến 70°C.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết polyphenol từ vỏ vải**

Thời gian (phút)	Polyphenol tổng số (mgGAE/g CK)	Hiệu suất thu hồi polyphenol (%)
60	59,01 <sup>a</sup>	61,31 <sup>a</sup>
90	55,47 <sup>a</sup>	57,63 <sup>a</sup>
120	58,08 <sup>a</sup>	60,34 <sup>a</sup>
150	58,27 <sup>a</sup>	60,54 <sup>a</sup>
180	61,68 <sup>a</sup>	64,09 <sup>a</sup>

Các số với các chữ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa 0,05.

\*: Hiệu suất thu hồi = Polyphenol tổng số thu được (mgGAE/g CK)/Polyphenol tổng số của vỏ vải (mgGAE/g CK)\*100

### 3.2.3. Ảnh hưởng của thời gian

Thời gian chiết cũng là một trong những yếu tố quan trọng, ảnh hưởng đến hiệu suất, chất lượng dịch chiết polyphenol cũng như tính kinh tế của quá trình. Nếu thời gian quá ngắn, không đủ để dung môi xâm nhập vào trong tế bào, hòa tan polyphenol và chiết rút ra ngoài ít thì lượng polyphenol thu được sẽ thấp, ngược lại thời gian chiết quá dài làm giảm hiệu suất sử dụng thiết bị và polyphenol có thể bị oxy hóa. Tiến hành chiết polyphenol từ vỏ vải trong các khoảng thời gian khác nhau, kết quả cho ở bảng 3. Số liệu được xử lý kết quả bằng phần mềm SAS9.0 cho thấy thời gian chiết thay đổi từ 60 đến 120 phút không có ảnh hưởng tới quá trình tách chiết polyphenol từ vỏ vải ở mức ý nghĩa = 0,05. Điều đó cho thấy đối với vỏ vải, thời gian 60 phút đủ để tách chiết polyphenol trong các điều kiện đã được xác định.

Xét sơ bộ ảnh hưởng của một số yếu tố đến hiệu suất thu hồi polyphenol từ vỏ vải ta thấy, thời gian 60 phút đủ để chiết polyphenol từ vỏ vải. Nhiệt độ trong khoảng 40°C - 60°C ảnh hưởng đến hiệu suất chiết. Thêm vào đó, vỏ vải còn chứa nhiều anthocyanin, các hợp chất này bên ở pH acid, nhiều kết quả chỉ ra rằng pH có ảnh hưởng đến hiệu quả chiết polyphenol từ vỏ vải (Ruenroengklin và cs., 2008; Zhong và cs., 2007). Xuất phát từ các kết quả nghiên cứu sơ bộ và tài liệu tham khảo về các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết polyphenol từ vỏ vải, nghiên cứu này đã tiến hành mô hình hóa quá trình chiết polyphenol từ vỏ vải với các yếu tố: nồng độ ethanol, nhiệt độ chiết và pH của dịch chiết.

### 3.3. Mô hình hóa quá trình chiết polyphenol từ vỏ vải

Tiến hành thí nghiệm theo 3 yếu tố ảnh hưởng:

X<sub>1</sub>: Nồng độ ethanol (% v/v)

X<sub>2</sub>: Nhiệt độ xử lý (°C)

X<sub>3</sub>: pH dung dịch chiết

Hàm mục tiêu là Y: Hàm lượng polyphenol thu được từ 1 g chất khô vỏ vải (g GAE/g DW).

Dạng mô hình:

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

Các mức thí nghiệm giới thiệu ở bảng 4.

Với các mức thí nghiệm như trên, bảng ma trận thực nghiệm (Bảng 5) được xây dựng. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả cho ở bảng 6.

Trong đó: các biến X<sub>i</sub><sup>S</sup> là các biến chuẩn. Công thức chuyển các biến thực thành biến chuẩn như sau: X<sub>i</sub><sup>S</sup> = 2 \* (X<sub>i</sub> - mức gốc) / (mức trên - mức dưới).

Ma trận kết quả được đưa vào phần mềm Nemrowd để xác định mô hình. Kết quả được chỉ ra ở bảng các hệ số của mô hình (Bảng 7).

Vậy mô hình miêu tả ảnh hưởng của các yếu tố nồng độ ethanol, nhiệt độ và pH đến hiệu suất chiết polyphenol vỏ vải như sau:

$$Y = 62745,17 + 3946,87XS_1 + 6643,00XS_2 - 9949,96XS_3 - 1392,63XS_1XS_2 + 2718,14XS_1XS_3 + 9880,41XS_2XS_3$$

Trong đó:

Các biến X<sub>Si</sub> là các biến chuẩn.

R<sup>2</sup> = 0,934 cho thấy mô hình phản ánh 93,4% thực tế.

**Bảng 4. Các mức thí nghiệm**

Mức thí nghiệm	X <sub>1</sub> – Nồng độ ethanol (%v/v)	X <sub>2</sub> – Nhiệt độ (°C)	X <sub>3</sub> - pH
Mức gốc	50	50	4
Khoảng biến đổi	10	10	2
Mức trên	60	60	6
Mức dưới	40	40	2

**Bảng 5. Ma trận thực nghiệm**

Số thí nghiệm	Biến chuẩn			Biến thực		
	X <sup>S</sup> <sub>1</sub>	X <sup>S</sup> <sub>2</sub>	X <sup>S</sup> <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> - Nồng độ ethanol (%v/v)	X <sub>2</sub> - Nhiệt độ (°C)	X <sub>3</sub> - pH
1	-1	-1	-1	40	40	2
2	+1	-1	-1	60	40	2
3	-1	+1	-1	40	60	2
4	+1	+1	-1	60	60	2
5	-1	-1	+1	40	40	6
6	+1	-1	+1	60	40	6
7	-1	+1	+1	40	60	6
8	+1	+1	+1	60	60	6

**Bảng 6. Ma trận kết quả**

Thí nghiệm	Nồng độ ethanol (% v/v)	Nhiệt độ (°C)	pH	Polyphenol tổng số (µg GAE/g CK)
1	40	40	2	77941,56
2	40	40	2	74894,70
3	40	40	2	78151,81
4	60	40	2	72679,79
5	60	40	2	76905,21
6	60	40	2	75022,19
7	40	60	2	63576,69
8	40	60	2	66131,90
9	40	60	2	68101,80
10	60	60	2	69069,67
11	60	60	2	79047,51
12	60	60	2	70818,77
13	40	40	6	25319,42
14	40	40	6	24709,25
15	40	40	6	23559,31
16	60	40	6	45261,42
17	60	40	6	47844,26
18	60	40	6	50937,12
19	40	60	6	70599,25
20	40	60	6	66635,34
21	40	60	6	65958,65
22	60	60	6	73611,97
23	60	60	6	68190,26
24	60	60	6	70916,31

**Bảng 7. Các hệ số của mô hình**

Độ lệch chuẩn của hàm mục tiêu		2825,037			
R <sup>2</sup>		0,934			
Bậc tự do		16			
Hệ số	Giá trị	F	Độ lệch chuẩn	t	Mức ý nghĩa %
b <sub>0</sub>	62745,174	1,00	576,658	108,81	< 0,01 ***
b <sub>1</sub>	3946,867	1,00	576,658	6,84	< 0,01 ***
b <sub>2</sub>	6643,004	1,00	576,658	11,52	< 0,01 ***
b <sub>3</sub>	-9949,960	1,00	576,658	-17,25	< 0,01 ***
b <sub>12</sub>	-1392,628	1,00	576,658	-2,41	2,69 *
b <sub>13</sub>	2718,143	1,00	576,658	4,71	0,0269 ***
b <sub>23</sub>	9880,412	1,00	576,658	17,13	< 0,01 ***

\*: Ý nghĩa 0,05; \*\*\*: ý nghĩa 0,001

**Bảng 8. So sánh giá trị thực tế và giá trị tính toán từ mô hình**

Thí nghiệm	Biến thực			Biến chuẩn			Polyphenol tổng số (µg GAE/g CK)		Sai khác*
	Nồng độ ethanol (% v/v)	Nhiệt độ (°C)	pH	X <sup>S</sup> <sub>1</sub>	X <sup>S</sup> <sub>2</sub>	X <sup>S</sup> <sub>3</sub>	Tính toán	Thực tế	
1	52	53	3,5	0,2	0,3	-0,25	67054,44	71235,82	94,13
2	54	56	3	0,4	0,6	-0,5	69442,72	75948,58	91,43
3	56	59	2,5	0,6	0,9	-0,9	69910,00	79750,35	87,66
4	58	62	2	0,8	1,2	-1	68456,30	67727,99	101,08

\*: Sai khác = Giá trị tính toán/Giá trị thực tế\*100

Bảng 7 cho thấy các yếu tố nồng độ ethanol, nhiệt độ và pH đều ảnh hưởng đến hàm mục tiêu ở mức ý nghĩa = 0,001 trong đó pH là yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất rồi tới nhiệt độ và nồng độ ethanol. Tuy nhiên, chiều hướng ảnh hưởng của các yếu tố này đến hàm mục tiêu thì khác nhau: trong giới hạn nghiên cứu, nồng độ ethanol và nhiệt độ ảnh hưởng dương đến hàm mục tiêu có nghĩa là khi tăng nồng độ ethanol hoặc tăng nhiệt độ chiết, lượng polyphenol thu được tăng; pH ảnh hưởng âm đến hàm mục tiêu, khi pH giảm, lượng polyphenol thu được tăng. Khi nhiệt độ tăng, độ nhớt của dung dịch giảm, khả năng thẩm thấu của dung môi vào tế bào và chiết polyphenol ra khỏi tế bào tăng. pH thấp một mặt giúp làm bền các hợp chất anthocyanin, mặt khác kìm hãm sự hoạt

động của enzyme polyphenol oxidase (Ruenroengklin và cs., 2008). Nồng độ ethanol tăng làm tăng hiệu suất thu polyphenol có lẽ được quyết định bởi tỷ lệ các hợp chất phenol ưa nước và kỵ nước của vỏ vải.

Sự tương tác giữa hai yếu tố trong các yếu tố nghiên cứu đều ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm mục tiêu, đặc biệt sự tương tác giữa pH và nồng độ ethanol, sự tương tác giữa pH và nhiệt độ đều ảnh hưởng đến hàm mục tiêu với mức ý nghĩa 0,001. Tương tác giữa nhiệt độ và pH ảnh hưởng mạnh nhất đến hàm mục tiêu.

### 3.4. Kiểm tra mô hình

Tiến hành thí nghiệm kiểm tra tính đúng đắn của mô hình ở các điều kiện trong khoảng nghiên cứu của các yếu tố (Bảng 8).



Kết quả cho thấy giá trị tính toán biến đổi 87% đến 101% so với giá trị thu được trên thực tế. Điều này phù hợp với giá trị  $R^2$  thu được của mô hình.

#### 4. KẾT LUẬN

Vỏ vải có hàm lượng polyphenol cao (9,625% chất khô). Đây là nguồn nguyên liệu dồi dào cho sản xuất dịch chiết polyphenol ứng dụng trong dược phẩm và công nghiệp thực phẩm.

Các yếu tố nhiệt độ, nồng độ ethanol và pH ảnh hưởng đến hiệu quả tách chiết polyphenol từ vỏ vải. Mô hình mô tả quá trình tách chiết theo các yếu tố trên như sau:

$$Y = 62745,17 + 3946,87XS_1 + 6643,00XS_2 - 9949,96XS_3 - 1392,63XS_1XS_2 + 2718,14XS_1XS_3 + 9880,41XS_2XS_3.$$

Mô hình này có thể sử dụng được để tiến hành tối ưu hóa điều kiện tách chiết polyphenol từ vỏ vải.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alberto M. R., M. A. R. Canavosio, M. C. Manca de Nadra (2006). Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial. *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458., 9 (3), Special Issue.
- AOAC Method 2005.02, 37.1.68. [http://www.aoac.org/omarev1/2005\\_02.pdf](http://www.aoac.org/omarev1/2005_02.pdf), cited 18/6/2009.
- Chirinos R., H. Rogez, D. Campos, R. Pedreschi, Y. Larondelle (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55, p. 217-225.
- Chun Yi, J. Shi, J. Kramer, S. Xue, Y. Jiang, M. Zhang, Y. Ma, J. Pohorly (2009). Fatty acid composition and phenolic antioxidant of winemaking pomace powder. *Food Chemistry*, 114, p. 570-576.
- Duan X., Y. Jiang, X. Su, Z. Zhang, J. Shi (2007). Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. *Food Chemistry*, 101, p. 1365–1371.
- Edeas M. (2006). Les antioxydants dans la tourmente. Newsletter de Société française des antioxydants, 9, p. 1-2.
- Hung H. C., K. J. Joshipura, R. Jiang, F. B. Hu, D. Hunter, S. A. Smith Warner (2004). Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of National Cancer Institute*, 96 (21), p. 1577 – 1584.
- Haliwell B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *The Lancet*, 344, p. 721-724.
- Hu Z.Q., X.M. Huang, H.B. Chen, H.C. Wang (2010). Antioxidant capacity and phenolic compounds in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp. III International Symposium on Longan, Lychee, and other Fruit Trees in Sapindaceae Family, [http://www.actahort.org/books/863/863\\_79.htm](http://www.actahort.org/books/863/863_79.htm), cited 25/6/2010.
- Pincemail J. and J. O. Defraigne (2004). Les antioxydants: une vaste réseau de défenses pour lutter contre l'oxygène toxique. Symposium annuel nutritionnel, Institut DANON, p. 13-26.
- Pompeu D. R., E. M. Silva, H. Rogez (2009). Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology*, 100, p. 6076-6082.
- Ruenroengklin N., J. Zhong, X. Duan, B. Yang, J. Li and Y. Jiang (2008). Effects of Various Temperatures and pH Values on the Extraction Yield of Phenolics from Litchi Fruit Pericarp Tissue and the Antioxidant Activity of the Extracted Anthocyanins. *Int. J. Mol. Sci.*, 9, p. 1333-1341.

- Silva E. M., H. Rogez, Y. Larondelle (2007). Optimisation of extraction of phenolic from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55, p. 381-387.
- Singleton, V. L. and L. A. Rossi (1965). Colorimetry of total phenolics and phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16, p. 144-158.
- Sudha M.L., V. Baskaran and K. Leelavathi (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, 104 (2), p. 686-692.
- Shabtay A., H. Eitam, Y. Tadmor, A. Orlov, A. Meir, P. Weinberg, Z. G. Weinberg, Y. Chen, A. Brosh, I. Izhaki, Z. Kerem (2008). Nutritive and Antioxidative Potential of Fresh and Stored Pomegranate Industrial Byproduct as a Novel Beef Cattle Feed. *J. Agric. Food Chem.*, 56, p. 10063–10070.
- Souza J. N. S., E. M. Silva, A. Loir, J-F. Rees, H. Rogez, Y. Larondelle (2008). Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chemistry*, 106, p. 331-339.
- Tapiero H., K. D. Tew, Nguen Ba G. and G. Mathé (2002). Polyphenols: Do they play a role in the prevention of human pathologies? Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 56, p. 200-207.
- Tabart J., C. Kevers, J. Pincemail, J.-O. Defraigne, J. Dommes (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113, p. 1226-1233.
- Todaro A., F. Cimino, P. Rapisarda, A. E. Catalano, R. N. Barbagallo, G. Spagna (2009). Recovery of anthocyanins from eggplant peel. *Food Chemistry*, 114, p. 434-439.
- Wang X., Y. Wei, S. Yuan, G. Liu, Y. L. J. Zhang, W. Wang (2006). Potential anticancer activity of litchi fruit pericarp against hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Cancer Letters* 239, p. 144-150.
- Zhong J., X.W. Duan, H.X. Qu, B. Yang, Y.L. Chen, N. Ruenroengklin, Y.M. Jiang (2007). Effects of various extraction conditions on phenolic contents and their antioxidant activities of litchi fruit pericarp. Europe-Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems - Eurasia 2007.