

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LI ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA TỪ VỎ CHANH DÂY (*Passiflora edulis*)

Phan Thế Duy¹, Ngô Duy Anh Triết², Giang Kiên Quốc^{3*}

EFFECT OF EXTRACTION CONDITIONS ON TOTAL POLYPHENOL CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PASSION FRUIT (*Passiflora edulis*) PEELS

Phan The Duy¹, Ngo Duy Anh Triet², Giang Kien Quoc^{3*}

Tóm tắt – Phương pháp trích li truyền thống và trích li có sự hỗ trợ của siêu âm được áp dụng trên vỏ quả chanh dây nhằm xác định phương pháp thu được hàm lượng polyphenol cao nhất và khả năng kháng oxy hóa tốt nhất. Đối với phương pháp trích li truyền thống, hàm lượng polyphenol thu được cao nhất ở điều kiện sử dụng dung môi methanol với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 g/mL trong thời gian 60 phút tại nhiệt độ 60°C. Tại điều kiện này, hàm lượng polyphenol thu được 6,19 mg GAE/g CKNL, khả năng kháng oxy hóa được đánh giá bằng phương pháp DPPH (IC₅₀), FRAP, ABTS+ lần lượt là 446 µg/mL; 3,32 mg Fe²⁺/g CKNL; 12,93 mg TE/g CKNL. Khi có sự hỗ trợ của siêu âm, hàm lượng polyphenol thu được cao nhất ở điều kiện sử dụng dung môi trích li là methanol, công suất 45% trong thời gian 12 phút và tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/40 g/ml. Tại điều kiện này, hàm lượng polyphenol là 7,35 mg GAE/g CKNL, đánh giá khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH (IC₅₀), FRAP, ABTS+, lần

lượt là 344 µg/ml; 3,89 mg Fe²⁺/g CKNL, 14,67 mg TE/g CKNL.

Từ khóa: ABTS, chanh dây, DPPH, FRAP, *Passiflora edulis*, polyphenol.

Abstract – Passion fruit peel has been extracted by two methods, traditional extraction, and ultrasonic-assisted extraction to obtain the highest polyphenol content and to assess their antioxidant activity. For the traditional extraction method, the highest polyphenol content obtained under conditions of using methanol solvent with the ratio of material/solvent was 1/20 (g/mL) for 60 minutes at a temperature of 60°C. Under these conditions, the polyphenol content was 6.19 mg GAE/g DM (dry matter), the ability to resist oxidation by DPPH (IC₅₀), FRAP, ABTS+ methods were 446 µg/ml, 3.32 mg Fe²⁺/g DM, 12.93 mg TE/g DM, respectively. With the ultrasound-assisted extraction method, the highest polyphenol content was obtained under the use of methanol for solvent, with a power capacity of 45%, a run time of 12 minutes, and a material/solvent ratio of 1/40 (g/mL). Under these conditions, the polyphenol content was 7.35 mg GAE/g DM, the ability to antioxidant determined by DPPH (IC₅₀), FRAP, and ABTS+ methods was 344 µg/mL, 3.89 mg Fe²⁺/g DM, 14.67 mg TE/g DM, respectively.

Keywords: ABTS, DPPH, FRAP, passion fruit, *Passiflora edulis*, polyphenol.

^{1,2}Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM, Việt Nam

³Khoa Nông nghiệp – Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 14/3/2022; Ngày nhận bài chỉnh sửa: 02/11/2022; Ngày chấp nhận đăng: 27/12/2022

*Tác giả liên hệ: gkquoc@tvu.edu.vn

^{1,2}Faculty of Food Science and Technology, Ho Chi Minh City University of Food Industry, Vietnam

³School of Agriculture and Aquaculture, Tra Vinh University, Vietnam

Received date: 14th March 2022; Revised date: 02nd November 2022; Accepted date: 27th December 2022

*Corresponding author: gkquoc@tvu.edu.vn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chanh dây (*Passiflora edulis*) còn được gọi là lạc tiên, chanh leo, dây mát... thuộc họ Passifloraceae, là một trong những trái cây được trồng phổ biến ở Việt Nam. Hiện tại, chanh dây chủ yếu dùng để sản xuất nước ép cô đặc và một số sản phẩm nước giải khát khác. Việc khai thác chanh dây chỉ để sản xuất nước trái cây đã và đang tạo ra áp lực lớn với môi trường trong việc xử lý các phế phụ phẩm như vỏ và hạt chanh dây bởi phần không ăn được chiếm hơn một nửa khối lượng quả [1]. Như vậy, để hạn chế vấn đề ô nhiễm môi trường cũng như gia tăng giá trị phụ phẩm, việc biến những phụ phẩm thành những sản phẩm có giá trị cao đang rất được quan tâm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy các chất thải từ thực phẩm như vỏ trái cây, rau củ quả là những phụ phẩm tốt chứa các nguồn polyphenol, carotenoid cùng các chất có hoạt tính sinh học khác với tác dụng có lợi cho sức khỏe con người, giúp kháng khuẩn và ngăn ngừa các loại bệnh mãn tính [2]. Các kết quả nổi bật có thể đại diện cho nghiên cứu này như thu hồi polyphenol từ vỏ chuối với các loại dung môi khác nhau [3], từ vỏ trái vải [4, 5]. Trong số các chất chống oxy hóa tự nhiên trong trái cây và phụ phẩm của chúng, polyphenol là nhóm chất đang rất được quan tâm. Sự quan tâm đến hợp chất này dựa trên sự hiểu biết sâu hơn về vai trò của các gốc tự do trong sự tiến triển của những loại bệnh ung thư, xơ vữa động mạch cùng các quá trình kháng viêm. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh polyphenol cũng như các hoạt chất kháng oxy hóa có trong vỏ và hạt chanh dây có tác dụng điều trị bệnh tiểu đường, huyết áp và giảm ‘stress oxy hóa’ [1]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của các yếu tố trích li đến khả năng thu nhận polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa trong cả hai phương pháp trích li truyền thống và trích li có hỗ trợ siêu âm đối với nguyên liệu là vỏ chanh dây.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

A. Nguyên vật liệu

Vỏ chanh dây tím (*Passiflora edulis* Sims) được thu mua tại huyện Châu Thành, tỉnh Tây Ninh. Vỏ tươi được loại bỏ lớp vỏ trắng bên trong, rửa sạch và sấy đối lưu ở nhiệt độ 50°C trong 12 giờ

để đạt độ ẩm khoảng 5%. Sau đó, vỏ khô được nghiền nhỏ, rây để đạt kích thước nhỏ hơn 2 mm và bảo quản trong các túi PE nhỏ.

Axit galic, thuốc thử Folin-Ciocalteu, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic axit), Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl-2-carbocyclic axit), TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine) và một số hóa chất khác được sử dụng ở dạng hóa chất tinh khiết phục vụ phân tích hóa học (được cung cấp bởi Merck, Singapore).

B. Phương pháp thí nghiệm

Cân 2 g bột vỏ chanh dây vào bình tam giác, bổ sung dung môi và thực hiện quá trình trích li theo phương pháp ngâm chiết truyền thống và trích li có hỗ trợ siêu âm. Đối với trích li có hỗ trợ siêu âm, thiết bị phát sóng siêu âm VC505 (Sonics, Mỹ) với công suất cực đại $W_{max} = 750$ W, tần số 20 kHz được sử dụng, đầu phát siêu âm được nhúng ngập vào nguyên liệu > 2 cm tại tâm cốc chứa mẫu. Các mẫu dịch sau khi trích li được đem đi lọc bằng giấy lọc để loại bỏ bã và cô quay chân không nhằm đuổi dung môi thu được cao chiết. Quá trình cô quay được thực hiện trên thiết bị cô quay chân không N-1110 (Eyela, Nhật Bản) với nhiệt độ được giữ cố định ở 45°C, cho đến khi khối lượng bình cầu đựng mẫu (cao chiết) không đổi. Cao chiết thu được từ các khảo sát được bảo quản trong tủ lạnh, trước khi thực hiện phân tích hàm lượng polyphenol và đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa bằng các phương pháp khác nhau. Trong nghiên cứu này, mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm giá trị sai số.

C. Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng polyphenol tổng bằng phương pháp so màu (phương pháp Folin Ciocalteu). Phương pháp này được thực hiện dựa vào phản ứng oxy hóa các hợp chất polyphenol bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu, trong quá trình khử các nhóm hydroxy phenol dễ bị oxy hóa, chất oxy hoá này sinh ra màu xanh có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm [2].

Xác định hoạt tính kháng oxy hóa bằng các phương pháp bắt gốc tự do DPPH, ABTS+ và phương pháp khử sắt FRAP. Phương pháp

bắt gốc tự do DPPH sử dụng 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) có khả năng tạo gốc tự do bên trong dung dịch methanol bão hòa. Khi có mặt chất chống oxy hóa, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl sẽ bị khử thành 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH-H), màu của dung dịch phản ứng nhạt dần, chuyển từ màu tím sang màu vàng nhạt, được xác định bằng độ hấp thụ quang của dung dịch sau phản ứng đo tại bước sóng 517 nm [6]. Phương pháp bắt gốc tự do ABTS+ dựa trên khả năng làm giảm độ hấp thụ của gốc tự do cation ABTS+ bởi các hoạt chất có hoạt tính chống oxy hóa ở bước sóng 734 nm được mô tả bởi Nenadis et al. [7]. Khi cho tác nhân chống oxy hóa vào dung dịch chứa ABTS+, các tác nhân chống oxy hóa sẽ khử ion này thành ABTS. Cường độ màu của ABTS+ tỉ lệ nghịch với các chất chống oxy hóa và thời gian phản ứng [7]. Phương pháp xác định hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp khử sắt (FRAP) dựa trên khả năng của các chất chống oxy hóa trong việc khử phức Fe^{3+} -TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) (màu tím) thành phức Fe^{2+} -TPTZ (màu xanh dương đậm) ở pH thấp. Khi đó, độ tăng cường độ màu xanh tỉ lệ với hàm lượng chất chống oxy hóa có trong nguyên liệu. Mức độ tăng cường độ màu này được đo ở bước sóng 593 nm và so sánh với chất chuẩn là dung dịch Fe^{2+} [8].

D. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả được xử lý bằng phần mềm thống kê Minitab 18. Kết quả phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) với độ tin cậy 95% được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức qua phép thử Tukey.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Ảnh hưởng của loại dung môi đến lượng polyphenol thu được và khả năng kháng oxy hóa

Với kỹ thuật trích li rắn-lỏng, việc lựa chọn dung môi phù hợp là rất quan trọng, có tính chất quyết định đến hiệu quả quá trình trích li. Các thông số cần quan tâm của dung môi là độ phân cực, moment lưỡng cực, liên kết hydro, độ nhớt, ... Theo nguyên tắc, các dung môi phân cực hòa tan các hợp chất phân cực tốt nhất còn các dung môi không phân cực sẽ hòa tan các hợp chất không phân cực tốt nhất [6]. Kết quả ảnh hưởng

của các loại dung môi đến hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa được thể hiện ở Bảng 1.

Trong Bảng 1, kết quả xử lý thống kê ở mức ý nghĩa 5% cho thấy các loại dung môi ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa của mẫu. Lượng polyphenol tổng thu được từ quá trình sử dụng dung môi methanol là cao nhất (4,09 mg GAE/g CKNL) và dung môi nước là thấp nhất (1,40 mg GAE/g CKNL). Điều này có thể được giải thích là do tính chất của dung môi methanol có khả năng hòa tan polyphenol tốt hơn mà không hòa tan thành phần polysaccharide và các thành phần khác trong bột vỏ chanh dây. Ngoài ra, dung môi nước có độ phân cực mạnh hơn methanol và ethanol nên trong quá trình trích li, ngoài polyphenol được trích li, còn lôi cuốn thêm nhiều hợp chất đại phân tử khác như polysaccharide, protein... gây ảnh hưởng đến độ chính xác của các phép thử định lượng và hoạt tính riêng của polyphenol [2]. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu về các hợp chất phenolic của vỏ chuối (*Musa paradaisica* L.) [7].

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của loại dung môi đến khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết được thể hiện qua ba phương pháp DPPH, ABTS và FRAP đều cho kết quả tỉ lệ thuận với hàm lượng polyphenol có trong dịch chiết thu được. Khi loại dung môi nào thu được lượng polyphenol cao nhất thì khả năng kháng oxy hóa cũng sẽ rất cao. Việc dùng dung môi methanol để trích li polyphenol cho kết quả cao nhất cả về hàm lượng polyphenol tổng và hoạt tính chống oxy hóa so với các dung môi khác trong khảo sát.

B. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến tổng hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa

Thông thường, với khối lượng nguyên liệu cố định, khi tăng tỉ lệ nguyên liệu/dung môi sẽ làm tăng hiệu suất trích li. Tuy nhiên, việc sử dụng lượng dung môi quá lớn sẽ gây lãng phí dung môi, làm tăng chi phí sản xuất. Khi sử dụng quá ít dung môi thì hiệu suất trích li thấp do lượng dung môi không đủ để hòa tan lượng chất cần thu hồi trong nguyên liệu. Như vậy, việc lựa chọn tỉ lệ nguyên liệu/dung môi sao cho hiệu suất trích

Bảng 1: Ảnh hưởng của loại dung môi đến lượng polyphenol thu được và khả năng kháng oxy

Dung môi	TPC (mg GEA/g CKNL)	DPPH (IC ₅₀) (µg/ml)	FRAP (mg Fe ²⁺ /g CKNL)	ABTS (mg TE/g CKNL)
Methanol	4,09 ± 0,17 ^a	523,81 ± 5,41 ^b	2,24 ± 0,04 ^a	7,26 ± 0,24 ^a
Ethanol	1,52 ± 0,03 ^b	686,51 ± 31,32 ^a	1,06 ± 0,05 ^b	2,86 ± 0,13 ^b
Nước	1,40 ± 0,04 ^b	691,47 ± 26,48 ^a	1,01 ± 0,05 ^b	2,49 ± 0,11 ^b

Ghi chú: ^{a,b} Các giá trị có kí tự ở trên khác nhau nằm trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$)

li cao và giảm thiểu chi phí sản xuất là rất cần thiết.

Kết quả thu được ở Bảng 2 cho thấy, khi tăng lượng tỉ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1/10 đến 1/40 thì hàm lượng polyphenol trích li cũng tăng theo. Tuy nhiên, khi tăng tỉ lệ nguyên liệu/dung môi lên 1/30; 1/40 thì độ tăng hàm lượng polyphenol không khác biệt có ý nghĩa. Kết quả này được giải thích như sau: lượng dung môi càng lớn thì lượng polyphenol thu được càng cao do tạo ra được sự chênh lệch nồng độ cần thiết bên trong và bên ngoài môi trường, tức là luôn có động lực cho quá trình. Nhưng khi ngâm chiết với lượng dung môi quá nhiều, trong khi hàm lượng polyphenol là một số cố định thì sẽ nhanh chóng dẫn đến sự cân bằng giữa các pha làm hiệu quả trích li polyphenol không tăng, có xu hướng tiệm cận ngang. Để tránh lãng phí dung môi, tiết kiệm chi phí mà vẫn đảm bảo hiệu suất cao, tỉ lệ 1/20 là mức thu được hàm lượng polyphenol cao nhất trong các tỉ lệ khảo sát và được lựa chọn để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

C. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích li đến lượng polyphenol thu được và khả năng kháng oxy hóa

Nhiệt độ trích li là một yếu tố quan trọng quyết định đến hiệu suất thu hồi cao chiết, hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa, ngoài ra nó còn ảnh hưởng đến chi phí và chất lượng của dịch chiết polyphenol.

Bảng 3 cho thấy hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa của bột vỏ chanh dây có tăng theo nhiệt độ trích li. Cụ thể, ở khoảng nhiệt độ từ 30 – 60°C, hàm lượng polyphenol tăng dần đến nhiệt độ 60°C thì hàm lượng polyphenol thu được là lớn nhất (6,19 mg GAE/g CKNL). Điều này có thể được giải thích là do nhiệt độ cao thì thúc đẩy sự xâm nhập của dung môi vào nguyên liệu, làm giảm độ nhớt của dung môi, tăng khuếch

tán phân tử từ trong nguyên liệu ra bên ngoài và chiết rút nhiều polyphenol. Tuy nhiên, khi nhiệt độ trích li đạt 65°C thì hàm lượng polyphenol giảm do nhiệt độ 65°C cao hơn nhiệt độ sôi của dung môi methanol (64,7°C) nên làm tăng sự thất thoát của dung môi ra môi trường, đồng thời nhiệt độ cao cũng làm giảm một số hoạt chất sinh học có trong mẫu. Kết quả này phù hợp với công bố của Ruenroengklin et al. [8]. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình chiết polyphenol từ 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 [9].

Các kết quả thu được cho thấy việc tăng nhiệt độ trích li ở giá trị thích hợp sẽ thu được hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa cao nhất của dịch chiết từ vỏ chanh dây. Do đó, giá trị nhiệt độ 60°C được chọn làm nhiệt độ trích li để tiến hành thí nghiệm khảo sát ở các thí nghiệm tiếp theo.

D. Ảnh hưởng của thời gian trích li đến lượng polyphenol thu được và khả năng kháng oxy hóa

Theo kết quả được biểu diễn ở Bảng 4, hàm lượng TPC thu được cao nhất ở 100 phút (6,50 mg GAE/g CKNL) và ở 140 phút thì bị giảm ở mức có ý nghĩa. Ở khoảng thời gian đầu từ 40 phút đến 100 phút, khi nồng độ các chất trong dung môi còn thấp thì tốc độ hòa tan các chất vào trong dung môi trích li còn cao. Nhưng khi tăng thời gian từ 100 phút đến 140 phút, hàm lượng polyphenol bắt đầu giảm bởi thời gian trích li dài làm polyphenol dễ bị oxy hóa bởi các enzyme oxy hóa có trong nguyên liệu. Mặc dù hàm lượng polyphenol thu được ở điều kiện 100 phút là cao nhất nhưng nó không có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% so với 60 phút. Do vậy, thời gian trích

Bảng 2: Sự ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa

Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	TPC (mg GEA/g CKNL)	DPPH (IC ₅₀) (µg/ml)	FRAP (mg Fe ²⁺ /g CKNL)	ABTS (mg TE/g CKNL)
1/10	4,09 ± 0,17 ^b	523 ± 5,41 ^a	2,24 ± 0,06 ^b	7,26 ± 0,24 ^b
1/20	5,69 ± 0,20 ^a	501 ± 12,25 ^b	3,29 ± 0,10 ^a	11,38 ± 0,26 ^a
1/30	5,73 ± 0,13 ^a	484 ± 4,42 ^{bc}	3,32 ± 0,03 ^a	11,44 ± 0,23 ^a
1/40	5,85 ± 0,10 ^a	469 ± 9,10 ^c	3,40 ± 0,05 ^a	11,60 ± 0,26 ^a

Ghi chú: ^{a,b} Các giá trị có kí tự ở trên khác nhau nằm trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Bảng 3: Sự ảnh hưởng của nhiệt độ trích li đến hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa

Nhiệt độ (°C)	TPC (mg GEA/g CKNL)	DPPH (IC ₅₀) (µg/ml)	FRAP (mg Fe ²⁺ /g CKNL)	ABTS (mg TE/g CKNL)
30	4,25 ± 0,12 ^c	628 ± 13,67 ^a	2,95 ± 0,06 ^c	10,27 ± 0,25 ^c
40	4,36 ± 0,15 ^c	582 ± 20,61 ^b	3,01 ± 0,06 ^b	10,32 ± 0,28 ^c
50	5,69 ± 0,20 ^b	516 ± 6,45 ^c	3,29 ± 0,10 ^a	11,38 ± 0,26 ^b
60	6,19 ± 0,21 ^a	498 ± 6,34 ^c	3,32 ± 0,05 ^a	12,93 ± 0,31 ^a
65	5,56 ± 0,11 ^b	517 ± 18,77 ^c	3,36 ± 0,04 ^a	13,11 ± 0,53 ^a

Ghi chú: ^{a,b,c} Các giá trị có kí tự ở trên khác nhau nằm trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$)

li 60 phút là phù hợp để tiết kiệm thời gian cũng như chi phí trích li.

E. Ảnh hưởng của điều kiện trích li có hỗ trợ siêu âm đến hàm lượng polyphenol tổng

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra, tác nhân siêu âm đóng vai trò quan trọng trong việc hỗ trợ cho quá trình trích li các hợp chất tự nhiên. Sóng siêu âm tác động làm tăng khả năng truyền khối bên trong và ngoài vách tế bào của nguyên liệu, năng lượng từ chu trình hình thành và phá vỡ bọt bóng làm rách thành tế bào, cho phép sự hấp thu dung môi vào trong tế bào và thực hiện khuếch tán, lôi kéo các chất tan ra ngoài thành tế bào nhờ đó làm tăng hiệu quả trích li so với phương pháp truyền thống [10,12].

Đối với yếu tố công suất siêu âm, TPC tăng khi tăng công suất từ 30 – 45% và bắt đầu giảm khi tăng lên 50%. Điều này có thể lí giải rằng cơ chế của sóng siêu âm làm tăng khả năng trích li dựa vào việc tạo ra một áp lực lớn xuyên qua dung môi và tác động đến tế bào vỏ, tăng khả năng truyền khối tới bề mặt phân tách và phá vỡ tế bào trên bề mặt và bên trong của vỏ giúp quá trình thoát chất tan được dễ dàng [10]. Các bọt khí được tạo thành trong dung môi khi sóng siêu âm truyền qua. Dưới tác động của bọt khí bị kéo,

nén, sự tăng áp suất và nhiệt độ làm các bọt khí vỡ, làm tăng sự thoát ra của các chất nội bào vào dung dịch. Công suất siêu âm càng lớn thì nhiều bong bóng tạo bọt được tạo ra, phá vỡ cấu trúc tế bào làm tăng khả năng trích li các chất hòa tan. Tuy nhiên, khi năng lượng siêu âm quá cao sẽ làm tăng sự phá hủy thành tế bào nguyên liệu, từ đó tạo nhiều cặn lơ lửng gây bít các lỗ mao quản trong nguyên liệu làm cản trở quá trình trích li. Ngoài ra, polyphenol là chất nhạy với tác nhân nhiệt và dễ bị oxy hóa nên khi tăng công suất tối đa thì dẫn đến sự dao động lớn làm nhiệt độ của dung dịch tăng gây ảnh hưởng đến tính chất polyphenol và hàm lượng polyphenol tổng số thu được.

Việc tăng công suất từ 30% lên 45% làm khả năng kháng oxy hóa tăng dần, ở mức công suất 45% cho kết quả hoạt tính kháng oxy hóa tốt nhất trong khoảng khảo sát công suất từ 30 – 50% (phương pháp DPPH ứng với IC₅₀ là 400,36 µg/ml; phương pháp ABTS+ đạt 8,71 mg TE/g CKNL; phương pháp FRAP đạt 2,77 mg Fe²⁺/g CKNL). Ở mức công suất tối đa 50%, khả năng kháng oxy hóa có xu hướng giảm dần. Nguyên nhân là do công suất siêu âm quá cao gây phân hủy các hợp chất kháng oxy hóa, ảnh hưởng đến hiệu quả kháng oxy hóa của mẫu. Như vậy, hoạt

Bảng 4: Sự ảnh hưởng của thời gian trích li đến hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa

Thời gian (phút)	TPC (mg GEA/g CKNL)	DPPH (IC ₅₀) (µg/ml)	FRAP (mg Fe ²⁺ /g CKNL)	ABTS (mg TE/g CKNL)
40	5,15 ± 0,16 ^c	533±8,56 ^a	2,82±0,05 ^b	12,05±0,08 ^b
60	6,19 ± 0,21 ^{ab}	446±21,01 ^c	3,32±0,05 ^a	12,93±0,31 ^{ab}
80	6,20 ± 0,12 ^{ab}	469±14,49 ^{bc}	3,15±0,08 ^a	13,28±0,65 ^{ab}
100	6,50 ± 0,09 ^a	498±6,35 ^{ab}	3,25±0,11 ^a	13,67±0,67 ^a
120	6,15 ± 0,10 ^{ab}	514±12,74 ^a	3,21±0,05 ^a	13,49±0,63 ^a
140	5,15 ± 0,16 ^c	533±8,56 ^a	2,82±0,05 ^b	12,05±0,08 ^b

Ghi chú: ^{a,b,c} Các giá trị có kí tự ở trên khác nhau nằm trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Bảng 5: Kết quả ảnh hưởng của điều kiện trích li có hỗ trợ siêu âm tới hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa

Yếu tố		TPC (mg GEA/g CKNL)	DPPH (IC ₅₀) (µg/ml)	FRAP (mg Fe ²⁺ /g CKNL)	ABTS (mg TE/g CKNL)
Công suất siêu âm (%)	30	3,09 ± 0,05 ^d	436 ± 4,75 ^b	1,75 ± 0,02 ^d	6,32 ± 0,09 ^d
	35	4,04 ± 0,15 ^c	428 ± 10,51 ^b	2,03 ± 0,03 ^c	7,34 ± 0,22 ^c
	40	4,84 ± 0,10 ^b	420 ± 7,66 ^b	2,40 ± 0,08 ^b	7,97 ± 0,22 ^b
	45	5,44 ± 0,06 ^a	400 ± 15,13 ^b	2,77 ± 0,05 ^a	8,71 ± 0,30 ^a
	50	5,34 ± 0,15 ^a	408 ± 6,70 ^a	2,64 ± 0,07 ^a	8,51 ± 0,34 ^a
Thời gian siêu âm (phút)	3	4,60 ± 0,15 ^d	425 ± 12,59 ^a	2,53 ± 0,06 ^d	8,23 ± 0,55 ^c
	6	5,44 ± 0,06 ^c	400 ± 15,13 ^{ab}	2,77 ± 0,05 ^c	8,71 ± 0,30 ^b
	9	6,08 ± 0,10 ^b	399 ± 8,68 ^{ab}	3,18 ± 0,11 ^b	9,09 ± 0,44 ^a
	12	6,74 ± 0,16 ^a	372 ± 8,29 ^b	3,40 ± 0,11 ^a	9,42 ± 0,33 ^a
	15	6,72 ± 0,07 ^a	391 ± 12,86 ^b	3,43 ± 0,04 ^a	9,50 ± 0,42 ^a
Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	1/10	5,28 ± 0,25 ^c	398 ± 7,81 ^a	2,55 ± 0,07 ^c	9,33 ± 0,36 ^d
	1/20	6,74 ± 0,16 ^b	372 ± 8,29 ^b	3,40 ± 0,11 ^b	9,42 ± 0,33 ^c
	1/30	6,82 ± 0,07 ^b	370 ± 9,53 ^b	3,58 ± 0,05 ^b	11,86 ± 0,43 ^b
	1/40	7,35 ± 0,22 ^a	344 ± 7,36 ^{bc}	3,89 ± 0,06 ^a	14,67 ± 0,67 ^a
	1/50	7,30 ± 0,20 ^a	353 ± 7,50 ^c	4,11 ± 0,10 ^a	14,87 ± 0,58 ^a

Ghi chú: ^{a,b,c} Các giá trị có kí tự ở trên khác nhau nằm trong cùng một cột thì khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$)

tính kháng oxy hóa thể hiện qua cả ba phương pháp DPPH, ABTS và FRAP đều tỉ lệ thuận với hàm lượng polyphenol có trong dịch chiết cũng như công suất siêu âm. Mức 45% được chọn là mức công suất cố định để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) của yếu tố thời gian siêu âm cho thấy có sự khác nhau về mặt thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức đối với hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa. Điều này chứng tỏ rằng sự thay đổi thời gian siêu âm có ảnh hưởng rõ đến quá trình phá vỡ tế bào thực vật để trích li polyphenol. Khi tăng thời gian siêu âm từ 3 – 12 phút, hàm lượng polyphenol thu được tăng 1,5 lần, có thể giải thích là do siêu âm có khả năng làm tăng tốc độ phá vỡ thành tế bào và mô thực vật cũng như

tốc độ truyền khối nên lượng dịch trích li ra cao hơn. Nhưng thời gian siêu âm từ 12 đến 15 phút, hàm lượng polyphenol không tăng, có xu hướng giảm nhẹ. Nguyên nhân là do thời gian siêu âm kéo dài sẽ làm năng lượng các hợp chất cao phân tử được giải phóng ra, từ đó có thể gây tắc các kênh dẫn dịch chiết trong khối nguyên liệu. Kết quả này tương tự nghiên cứu trên quả tầm xuân [11].

Bảng 5 cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng ba phương pháp có mối tương quan với nhau ở mức thời gian trích li 12 phút cao hơn so với thời gian 3, 6, 9 phút. Khi thời gian siêu âm tăng sẽ làm hàm lượng polyphenol tăng rõ rệt và khả năng kháng oxy hóa cũng tăng chứng tỏ giữa hàm lượng polyphenol thể hiện tính tương quan mạnh mẽ với khả năng kháng oxy hóa.

Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi trong quá trình trích li có hỗ trợ siêu âm đến hàm lượng polyphenol có xu hướng tăng dần từ tỉ lệ 1/10 (5,28 mg GAE/g CKNL) đến tỉ lệ 1/20 (6,74 mg GAE/g CKNL); từ tỉ lệ 1/20 đến 1/30 hàm lượng polyphenol có tăng nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa; tỉ lệ 1/40 cho kết quả hàm lượng polyphenol cao hơn các mức tỉ lệ trong khảo sát (7,35 mg GAE/g CKNL) và lượng polyphenol giảm dần ở tỉ lệ 1/50. Điều này có thể lí giải do lượng dung môi quá ít, không đủ để hòa tan và trích li hết lượng polyphenol ra khỏi tế bào. Do đó, khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì hàm lượng polyphenol thu được xu hướng tăng. Tuy nhiên, khi sử dụng dung môi quá nhiều, mà hàm lượng polyphenol trong nguyên liệu là một số cố định sẽ nhanh chóng dẫn đến sự cân bằng giữa các pha, làm hàm lượng polyphenol không tăng [12].

IV. KẾT LUẬN

Cả hai phương pháp trích li truyền thống và trích li có sự hỗ trợ của sóng siêu âm đều có tác dụng tích cực đến quá trình trích li các hợp chất polyphenol và khả năng kháng oxy hóa từ vỏ chanh dây. Tuy nhiên phương pháp có sự hỗ trợ của sóng siêu âm cho kết quả TPC cao hơn gần 0,84 lần so với phương pháp truyền thống.

Khả năng kháng oxy hóa ở phương pháp siêu âm đều cao hơn lần lượt là 0,77, 0,85 và 0,88 lần so với phương pháp truyền thống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Corrêa RCG, Peralta RM, Haminiuk CWI, Maciel GM, Bracht A, Ferreira ICFR. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Pasiflora* spp. (passion fruit). *Trends in Food Science and Technology*. 2016;58: 79–95.
- [2] Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10): 7313–7352.
- [3] Garcia EJ, Oldoni TLC, de Alencar SM, Reis A, Loguercio AD, Grande RHM. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. *Brazilian Dental Journal*. 2012;23(1): 22–27.
- [4] Nenadis N, Wang LF, Tsimidou M, Zhang HY. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(15): 4669–4674.
- [5] Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 1996;239(1): 70–76.
- [6] Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*. 2021;4: 200–214.
- [7] Aboul-Enein AM, Salama ZA, Gaafar AA, Aly HF, Abou-Elella FA, Ahmed HA. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2016;8(4): 46–55.
- [8] Ruenroengklin N, Zhong J, Duan X, Yang B, Li J, Jiang Y. 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. *International Journal of Molecular Science*. 2008;9(7):1333–1341.
- [9] Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Núñez MJ. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(6): 2111–2117.
- [10] Hồ Thị Ngọc Trâm. *Nghiên cứu ứng dụng sóng siêu âm cải thiện quá trình trích li polyphenol từ trà oolong phụ phẩm*. Luận văn Thạc sĩ. 2014. Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. [Ho Thi Ngoc Tram. *Application of ultrasound waves to improve the polyphenol extraction process from by-product oolong tea*. Master's thesis. Nong Lam University-HCM City; 2014].
- [11] Vo HD, Le VVM. Optimization of ultrasonic treatment of rose myrtle mash in the extraction of juice with high antioxidant level. *International Food Research Journal*. 2014;21(6): 2331–2335.
- [12] Maran JP, Manikandan S, Nivetha CV, Dinesh R. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017;10(1): S1145–S1157.

