

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN CHIẾT POLYPHENOL TỪ BÃ TRÁI NHÀU OPTIMIZATION OF POLYPHENOL EXTRACTION FROM NONI FRUIT RESIDUE

Phạm Văn Đạt¹, Trần Thị Mỹ Hạnh², Nguyễn Xuân Duy²

1. Trung tâm Nghiên cứu và Chế biến Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

2. Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Nguyễn Xuân Duy, (Email: duynx@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 23/10/2023; Ngày phân biện thông qua: 14/11/2023; Ngày duyệt đăng: 15/12/2023

TÓM TẮT

Bã trái nhàu (BTN) được xem là phế liệu trong quá trình chế biến sản phẩm nước cốt nhàu. Tuy nhiên, trong thành phần của BTN còn chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quý có thể tận dụng để gia tăng thêm giá trị cho trái nhàu. Mục tiêu của nghiên cứu này là nghiên cứu thiết lập điều kiện chiết tối ưu để thu nhận hợp chất polyphenol từ BTN. Nghiên cứu điều kiện chiết tối ưu dựa vào phương pháp qui hoạch thực nghiệm một yếu tố với các thông số chính bao gồm: Nhiệt độ chiết, thời gian chiết, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết và nồng độ dung môi chiết. Sau khi thiết lập được điều kiện chiết tối ưu, hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết được đánh giá dựa vào khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH và tổng năng lực khử (RPA). Kết quả nghiên cứu cho thấy điều kiện chiết tối ưu để thu được hàm lượng polyphenol tổng cao nhất từ BTN được xác định như sau: Nhiệt độ 80°C, thời gian chiết 40 phút, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết 1/10 (g/ml) và nồng độ ethanol 40% (v/v). Tại điều kiện chiết tối ưu, dịch chiết từ BTN có hàm lượng polyphenol tổng đạt được là 846 mg GAE/100g chất khô. Dịch chiết từ BTN thu được ở điều kiện chiết tối ưu dựa vào khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH và tổng năng lực khử (RPA) với giá trị IC₅₀ lần lượt là 303 và 780 µg/ml. Kết quả đạt được từ nghiên cứu này chỉ ra tiềm năng sử dụng dịch chiết từ bã trái nhàu như một nguồn chất chống oxi hóa tự nhiên và khả năng ứng dụng trong phát triển các sản phẩm thực phẩm và thực phẩm chức năng.

Từ khóa: Bã trái nhàu, hoạt tính chống oxi hóa, polyphenol, trái nhàu, tối ưu hóa.

ABSTRACT

The residue from processing process of the noni concentrated extract is considered waste. However, these wastes contain numerous bioactive compounds that can be utilised to enhance the value of noni fruit. The aim of this study is to investigate the establishment of optimal conditions for maximizing the extraction of total polyphenol content from the noni fruit residue. The optimization based on a one-factor design method involving key parameters such as extraction temperature, extraction time, sample-to-solvent ratio, and the concentration of the extraction solvent. Under the optimal extraction condition, the antioxidant activity of the obtained extract assessed by evaluating its ability to eliminate DPPH free radicals and its overall reducing power ability (RPA). The research results reveal that the optimal extraction conditions for obtaining the highest total polyphenol content from the noni fruit residue are as follows: Extraction temperature of 80°C, extraction time of 40 minutes, sample-to-solvent ratio of 1/10 (g/ml), and ethanol concentration of 40% (v/v). At the optimal extraction condition, the extract obtained from the noni fruit residue had a total polyphenol content of 846 mg GAE/100g dry weight. The extract obtained under the optimal extraction conditions exhibited antioxidant activity based on its ability to eliminate DPPH free radicals and its overall reducing power with IC₅₀ values of 303 and 780 µg/ml, respectively. The results obtained from this study indicate the potential use of the noni fruit residue extract as a natural antioxidant resource and its potential application in the development of food products and functional foods.

Keywords: Noni fruit residue, antioxidant activity, polyphenol, noni fruit, optimization.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhàu là một loại cây nhiệt đới được trồng khá phổ biến ở Việt Nam. Tên khoa học là

Morinda citrifolia. Trái nhàu từ lâu đã được sử dụng như một loại thực phẩm với nhiều công dụng quý. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng trong

thành phần trái nhàu chứa nhiều hợp chất có giá trị dinh dưỡng và dược học (Ubirajara *et al.*, (2020), Yanine *et al.*, (2006), Amy (2012)). Những hợp chất thuộc nhóm polyphenol được tìm thấy trong quả nhàu mang lại nhiều tác dụng sinh học quý (Brett *et al.*, (2018), Mohd *et al.*, (2007)). Vì vậy, trong thực tế hiện nay, từ trái nhàu có thể chế biến thành nhiều sản phẩm thực phẩm, thực phẩm chức năng hoặc thành phần chính để chế biến thực phẩm chức năng.

Bã trái nhàu (BTN) là thành phần còn lại được xem như là phụ phẩm trong quá trình chế biến sản phẩm nước cốt nhàu. Tại các nhà máy chế biến nước cốt nhàu, BTN hầu như được xem là phế liệu của quá trình sản xuất và hầu như không có giá trị sử dụng hoặc bị loại bỏ như là chất thải. Từ thực tế cho thấy trong BTN vẫn còn nhiều hợp chất quý có thể khai thác và tận dụng để tạo thêm giá trị gia tăng cho trái nhàu cũng như quá trình chế biến các sản phẩm từ trái nhàu. Các hợp chất có hoạt tính quý có trong BTN có thể kể đến là nhóm hợp chất polyphenol, các flavonoid, vitamin C và các chất khác. Việc loại bỏ bã trái nhàu trong quá trình chế biến sản phẩm nước cốt nhàu hiện nay tại các nhà máy chế biến không chỉ gây lãng phí về nguồn tài nguyên mà còn có thể gây ra những tác động tiêu cực đối với môi trường. Bằng cách tận dụng BTN để thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học quý không chỉ giúp gia tăng thêm giá trị cho trái nhàu mà còn giúp giảm tác động xấu đến môi trường do

việc thải bỏ bã trái nhàu gây ra. Các hợp chất có hoạt tính sinh học thu nhận từ bã trái nhàu có thể ứng dụng phát triển thành các sản phẩm thực phẩm, thực phẩm chức năng và các ứng dụng khác.

Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm nghiên cứu điều kiện chiết tối ưu (nhiệt độ, thời gian, nồng độ dung môi, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết) để thu nhận các hợp chất polyphenol từ bã trái nhàu và định hướng ứng dụng để gia tăng giá trị cho trái nhàu.

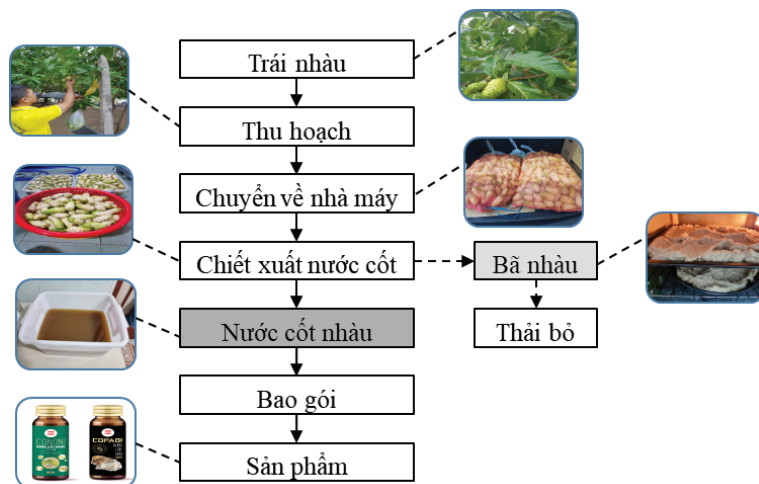
II. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu nhận bã trái nhàu

Bã trái nhàu là thành phần thải ra từ quá trình chế biến sản phẩm nước cốt nhàu. Sơ đồ quy trình tổng quát công nghệ chế biến sản phẩm nước cốt nhàu được thể hiện trong Hình 1. Bã trái nhàu được thu nhận trực tiếp tại phân xưởng chế biến của Trung tâm Nghiên cứu và Chế biến Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang trong tháng 5/2023. Mẫu bã trái nhàu ở dạng sệt, tươi, đã nghiền nhuyễn. Mẫu sau khi thu nhận được đựng trong túi PA và được bảo quản lạnh trong thùng cách nhiệt và nhanh chóng chuyển về phòng thí nghiệm trong thời gian không quá 1 giờ. Tại phòng thí nghiệm, mẫu được cấp đông và bảo quản đông ở -40°C cho đến khi sử dụng.

2.2. Bố trí thí nghiệm tối ưu theo qui hoạch thực nghiệm một yếu tố

Sử dụng phương pháp bố trí thí nghiệm một



Hình 1. Sơ đồ quy trình tổng quát chế biến sản phẩm nước cốt nhàu.

yếu tố để nghiên cứu xác định điều kiện chiết thích hợp bao gồm các yếu tố sau: Nhiệt độ 40 – 90°C, thời gian 10 – 60 phút, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết 1/5 – 1/30 (w/v) và nồng độ dung môi ethanol trộn với nước 0 – 100% (v/v). Mỗi thí nghiệm được tiến hành trên 10g bã trái nhàu, dịch chiết thu được bằng cách ly tâm lạnh ở 4°C, tốc độ 5000 vòng/phút trong thời gian 15 phút (Centrifuge, Labentech, Mega 17R, Germany). Phần dịch trong thu được đem đi bảo quản trong điều kiện lạnh dưới 5°C cho đến khi phân tích.

2.3. Các hóa chất sử dụng

Folin-Ciocalteu reagent, Sodium carbonate (Na_2CO_3), disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4), sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4), Potassium ferricyanide ($\text{C}_6\text{N}_6\text{FeK}_3$), ferric chloride ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), AlCl_3 , TCA, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Trolox, Vitamin C, Gallic acid, ethanol. Tất cả các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều đáp ứng hạng phân tích mua từ các hãng hóa chất có uy tín trong và ngoài nước.

2.4. Phương pháp phân tích hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp của Singleton *et al.*, (1999) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Cụ thể như sau: Dịch chiết được hòa loãng ở nồng độ thích hợp, sau đó 0,1 ml dịch chiết đã pha loãng trộn với 0,9 ml nước cất trước khi thêm 1 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu. Hỗn hợp được trộn đều trước khi thêm 2,5 ml Na_2CO_3 7,5%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được giữ ở 30°C trong 30 phút trước khi đo bước sóng ở 760 nm trên máy quang phổ kế (Carry 50, Varian, Australia). Kết quả được báo cáo bởi mg a xít Gallic tương đương (mg GAE)/100g chất khô (db).

2.5. Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa dựa vào gốc tự do DPPH

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được xác định theo phương pháp của Fu *et al.* (2002) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Tóm tắt: Dịch chiết được pha loãng đến những nồng độ thích hợp và được trộn với nước cất để đạt thể tích tổng cộng 3 ml. Sau đó thêm 1 ml dung

dịch DPPH 0,1 mM (pha trong ethanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm (Spectrophotometer, Carry 50, Varian, Australia). Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau: $\text{DPPH} (\%) = 100 \times (\text{ACT} - \text{ASP}) / \text{ACT}$. Trong đó: ACT: Độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; ASP: Độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết. Kết quả báo cáo bởi giá trị IC_{50} là thể tích của dịch chiết khử được 50% gốc tự do DPPH ở điều kiện xác định. Giá trị IC_{50} càng thấp thì hoạt tính khử gốc tự do DPPH càng cao.

2.6. Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa dựa vào tổng năng lực khử

Năng lực khử được xác định theo phương pháp của Oyaizu (1986) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Cụ thể: Nhiều thể tích khác nhau của dịch chiết được trộn với đệm phosphate có pH = 6,6 để đạt thể tích cuối cùng 1,5 ml trước khi thêm 0,5 ml $\text{K}_3(\text{Fe}[\text{CN}]_6)$ 1%. Hỗn hợp được ủ ở 50°C trong 20 phút, làm nguội bằng vòi nước chảy trong 5 phút, sau đó thêm 0,5 ml TCA 10% và tiếp đến là 2 ml nước cất, cuối cùng 0,4 ml AlCl_3 0,1% được thêm vào. Độ hấp thụ quang học được xác định tại bước sóng 700 nm (Spectrophotometer, Carry 50, Varian, Australia). Độ hấp thụ quang học càng cao thì năng lực khử càng mạnh. Kết quả được tính toán với giá trị IC_{50} , là lượng mẫu làm tăng độ hấp thụ quang học lên 0,50.

2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Các phân tích được tiến hành lặp lại ít nhất ba lần để đảm bảo thực hiện phân tích ANOVA. Số liệu được phân tích trên phần mềm Statistica 10.0 (Statsoft, Tulsa, USA). Kiểm định Tukey's HSD được thực hiện sau phân tích ANOVA để đánh giá sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với giá trị $P < 0,05$. Các hình vẽ và đồ thị được vẽ trên phần mềm Excel (Office 2016, Microsoft, USA).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết

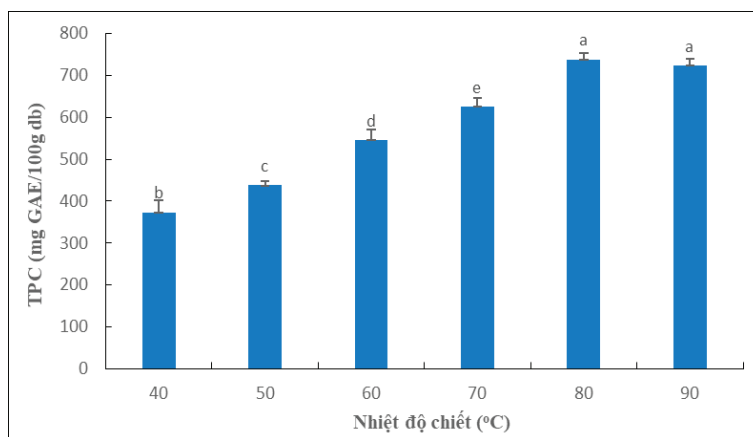
Nhiệt độ là một trong những thông số quan trọng ảnh hưởng nhiều đến quá trình chiết các hợp chất polyphenol từ nguyên liệu thực vật.

Vì vậy, khảo sát ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ đến hàm lượng các chất polyphenol là thông số quan trọng cần được thực hiện. Hình 2 trình bày kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng tổng phenolics (TPC) chiết được từ bã trái nhàu. Kết quả cho thấy khi tăng nhiệt độ chiết từ 40°C lên 90°C thì hàm lượng polyphenol chiết được cũng tăng ($P < 0,05$). Hàm lượng TPC chiết được ở 40°C chỉ là 373 mg GAE/100g chất khô (đb). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ chiết lên tới 90°C thì hàm lượng TPC thu được cao hơn rất nhiều, với giá trị đạt được là 724 mg GAE/100g db, tăng gần 1,94 lần. Sở dĩ nhiệt độ tăng thì hiệu suất thu được TPC tăng là bởi vì khi tăng nhiệt độ làm giảm độ nhớt của dung môi chiết, tăng khuếch tán phân tử từ bên trong nguyên liệu ra bên ngoài, cấu trúc của nguyên liệu cũng bị suy yếu do nhiệt độ, tạo điều kiện cho việc giải phóng các chất từ trong tế bào nguyên liệu ra bên ngoài. Nhìn chung, quá trình chiết các chất từ nguyên liệu thực vật tuân theo định luật Fick

về vận tốc khuếch tán (Nguyễn Bin, 2004).

Một số nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol cũng đã được thực hiện bởi một số tác giả. Trong nghiên cứu của Vương và cộng sự (2013) đã chỉ ra rằng có một mối quan hệ chặt chẽ giữa nhiệt độ chiết với hàm lượng polyphenol chiết được từ thực vật.

Kết quả nghiên cứu (Hình 2) cũng chỉ ra rằng hàm lượng TPC chiết ở 80°C (738 mg GAE/100g db) và 90°C (723 mg GAE/100g db) không có sự khác biệt đáng kể ($P > 0,05$). Hơn nữa, các hợp chất polyphenol thường nhạy cảm với yếu tố nhiệt độ. Khi chiết xuất ở nhiệt độ càng cao thì khả năng gây hư hỏng các hợp chất polyphenol càng nhiều. Mặt khác, bên cạnh các hợp chất polyphenol có trong bã nhàu còn có những những chất khác khác có giá trị dinh dưỡng và dược học mà những chất này cũng có thể nhạy cảm với nhiệt độ cao. Vì vậy, kết hợp các yếu tố trên, chọn nhiệt độ chiết ở 80°C để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng TPC. Chữ cái khác nhau trên cột chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2. Ảnh hưởng của thời gian chiết

Thời gian chiết cũng là một trong những thông số quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả chiết các hợp chất polyphenol từ bã trái nhàu. Kết quả trên Hình 3 chỉ ra rằng thời gian chiết có ảnh hưởng đến hiệu suất chiết TPC từ bã nhàu. Theo đó, hàm lượng TPC tăng lên cùng với sự tăng của thời gian chiết từ 10 phút đến 40 phút ($P < 0,05$), tương ứng với đó là giá trị hàm lượng TPC thu được tăng từ 485 lên 784

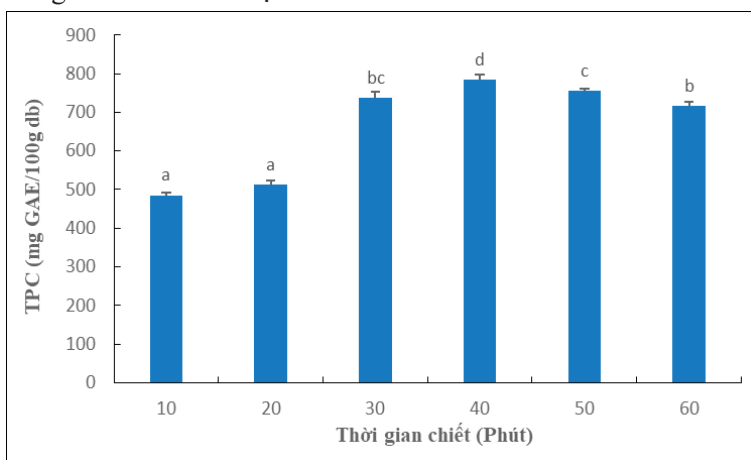
mg GAE/100g db. Tuy nhiên, sau đó hiệu suất chiết polyphenol không tăng nữa mặc dù thời gian chiết kéo dài đến 60 phút ($P > 0,05$). Cũng tương tự như yếu tố nhiệt độ, thời gian chiết càng dài thì khả năng chiết TPC càng cao điều này cũng tuân theo định luật Fick về tốc độ khuếch tán. Tuy nhiên, khi quá trình khuếch tán đã đạt được trạng thái cân bằng hay nói cách khác, nồng độ chất khuếch tán bên trong nguyên liệu và bên ngoài đạt trạng thái cân

bằng, khi đó không tồn tại sự chênh lệch về gradient nồng độ nữa. Điều này dẫn đến quá trình khuếch tán chậm lại hoặc không diễn ra nữa. Đây chính là cơ sở để giải thích cho kết quả ở Hình 3 khi kéo dài thời gian chiết lớn hơn 40 phút dẫn đến hàm lượng TPC không tăng mà có xu hướng giảm. Mặt khác, khi kéo dài thời gian chiết kết hợp với yếu tố nhiệt độ chiết cao (khoảng 80°C) có thể dẫn đến sự phá hủy một số hợp chất nhạy cảm với nhiệt, trong đó có các hợp chất thuộc nhóm polyphenol.

Cho đến nay có rất ít công bố về nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất

chiết phenolics từ bã trái nhàu. Phần lớn các nghiên cứu đều tập trung vào việc chiết xuất nước cốt từ trái nhàu và đánh giá hoạt tính sinh học từ phần nước cốt. Nghiên cứu này tập trung vào việc tận dụng bã trái nhàu để thu hồi các chất có hoạt tính sinh học, các chất thuộc nhóm polyphenol để nâng cao giá trị cho phần phế liệu thải bỏ ra từ quá trình chế biến sản phẩm nước cốt nhàu.

Dựa vào các kết quả thảo luận ở trên, chọn thời gian chiết thích hợp là 40 phút để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hàm lượng TPC. Chữ cái khác nhau trên cột chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết

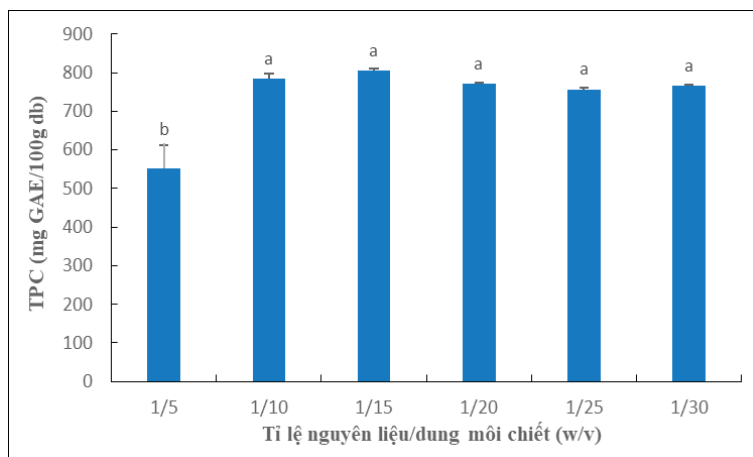
Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết cũng là một thông số quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả chiết các hợp chất polyphenol từ bã trái nhàu. Kết quả trình bày trong Hình 3 cho thấy ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết đến hàm lượng TPC. Khi tăng tỉ lệ này từ 1/5 lên 1/30 (g/ml) thì hàm lượng TPC chiết được tăng lên đáng kể ($P < 0,05$) và đạt giá trị tối đa 805 mg GAE/100g db ở tỉ lệ 1/15 (w/v). Xu hướng này cũng phù hợp với những kết quả được báo cáo bởi một số tác giả khác khi nghiên cứu chiết các nguyên liệu nguồn gốc thực vật (Pinelo và cộng sự, 2005; Vuong và cộng sự, 2011). Điều này có thể được lý giải là vì khi tăng tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết dẫn đến sự chênh lệch gradient nồng độ của các chất cần chiết trong nguyên liệu với môi trường

chiết nên hiệu quả chiết tăng lên (Gertenbach, 2001). Xu hướng này một lần nữa cũng tuân theo định luật Fick. Tuy nhiên, để chọn được một tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết thích hợp cần phải tính đến hiệu quả chung của quá trình vì có liên quan đến chi phí năng lượng, thiết bị, chi phí dung môi, xử lý loại bỏ bã chiết và vấn đề về môi trường. Vì vậy, tùy vào mục đích cụ thể và lượng dịch chiết cần thu thập để thực hiện các quá trình chế biến tiếp theo mà chọn tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết thích hợp.

Kết quả nghiên cứu (Hình 4) cũng chỉ ra rằng khi tăng tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết từ 1/10 đến 1/30 (g/ml) không dẫn đến sự tăng lên đáng kể hàm lượng TPC chiết được ($P > 0,05$) và hàm lượng TPC chiết ở tỉ lệ 1/10 đến 1/30 (g/ml) không có sự khác biệt đáng kể ($P > 0,05$). Một tỉ lệ cao hơn giữa nguyên liệu và dung môi chiết không được khuyến dùng vì có thể dẫn đến sự

tồn thất các hợp chất polyphenol, chi phí dung môi cao và cũng như khó khăn hơn trong việc tách bã nguyên liệu khỏi dịch chiết (Vuong và

cộng sự, 2011). Vì vậy, chọn tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết thích hợp là 1/10 (g/ml) để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

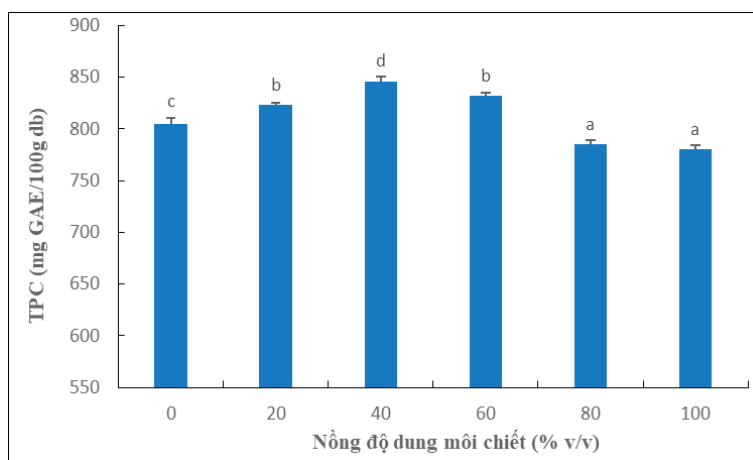


Hình 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết đến hàm lượng TPC. Chữ cái khác nhau trên cột chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi chiết

Quá trình chiết/trích ly các hợp chất polyphenol cũng chịu ảnh hưởng mạnh mẽ bởi độ phân cực của dung môi chiết. Trong bã trái nhàu có thể còn chứa nhiều hợp chất có độ phân cực khác nhau. Điều quan trọng là làm sao để chọn được loại dung môi chiết thích hợp để đảm bảo thu được tối đa các hợp chất polyphenol từ nguyên liệu. Với mục đích là chọn được loại dung môi chiết thích hợp để thu được TPC cao nhất, nhưng cũng đồng thời đảm bảo tính an toàn trong sử dụng sản

phẩm dịch chiết cho mục đích thực phẩm, được phẩm sau này, đồng thời cũng xem xét đến khả năng tái sử dụng, tính độc của dung môi. Vì vậy, ethanol được lựa chọn như là ứng cử viên thích hợp nhất để làm dung môi chiết. Ethanol là một trong những dung môi thường được lựa chọn để chiết các hợp chất polyphenol từ thực vật (Azmir và cộng sự, 2013; Cowan, 1999). Vì ethanol có độ phân cực thấp (hằng số điện môi $\epsilon = 22,5$) nên để tạo ra một dãy các hệ dung môi chiết với độ phân cực khác nhau, một tỉ lệ kết hợp giữa ethanol với nước để tạo ra các hệ dung môi có độ phân cực khác nhau.



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng TPC. Chữ cái khác nhau trên cột chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

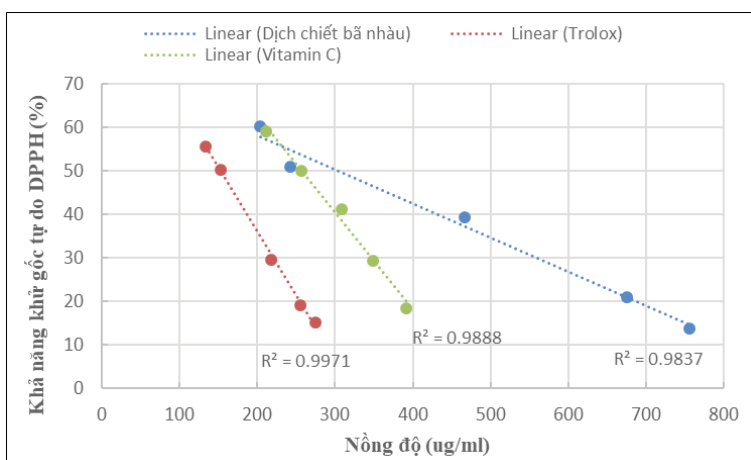
Hình 5 trình bày kết quả xác định ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng TPC. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng TPC tăng lên đáng kể khi tăng nồng độ ethanol từ 0 đến 40% ($P < 0,05$). Ở nồng độ ethanol trên 60% dẫn đến sự giảm hiệu suất chiết TPC rõ rệt ($P < 0,05$). Kết quả cũng chỉ ra rằng chiết TPC ở dải nồng độ ethanol 40% đến 60% là thích hợp. Điều này có thể được lý giải là vì các hợp chất ethanol trong bã trái nhàu có độ phân cực trung bình là chủ yếu. Do đó, nếu thực hiện quá trình chiết ở nồng độ ethanol thấp (dưới 40%) hoặc cao (trên 60%) đều không hiệu quả. Kết quả này cũng phù hợp với một số công bố của các tác giả trước đây (Qian và Nihorimbere, 2004; Lại Thị Ngọc Hà và Vũ Thị Thu, 2009). Từ những kết quả đạt phân tích ở trên, chọn nồng độ ethanol 40% là nồng độ dung môi chiết thích hợp nhất.

Như vậy, tổng hợp các kết quả phân tích ở trên, chọn điều kiện chiết tối ưu để thu nhận TPC từ bã trái nhàu là: Dung môi chiết là ethanol 40% (v/v), nhiệt độ chiết 80°C, thời gian chiết 40 phút và tỉ lệ nguyên liệu/dung môi chiết là 1/10 (g/ml). Đây được xem là điều kiện chiết tối ưu nhất cho quá trình thu nhận các hợp chất TPC trong bã trái nhàu.

3.5. Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết từ bã trái nhàu

Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết thu được từ bã trái nhàu ở điều kiện chiết tối ưu được đánh giá dựa vào khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH và tổng năng lực khử (RPA).

Khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH là một trong những phép phân tích để đánh giá hoạt tính chống oxi hóa trong *in vitro* thường sử dụng nhất trong nghiên cứu, có đến 90% các nghiên cứu về chất chống oxi hóa sử dụng phép phân tích này (Joon-Kwan và Takayuki, 2009). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng có một mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng các chất phenolics với hoạt tính chống oxi hóa (Suganya và cộng sự, 2007; Hui-Yin Chen và Gow-Chin Yen, 2007; Trương Tuyết Mai và cộng sự, 2012; Nguyễn Xuân Duy và Hồ Bá Vương, 2013). Hình 6 trình bày kết quả xác định khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của dịch chiết từ bã trái nhàu trong sự so sánh với các chất chống oxi hóa thương mại Trolox (một dạng chất chống oxi hóa tương tự vitamin E nhưng có khả năng hòa tan trong nước). Nhìn chung, khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của dịch chiết từ bã trái nhàu phụ thuộc vào nồng độ hay nói cách khác khi nồng độ tăng thì khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH tăng. Để có thể so sánh với các chất chống oxi hóa thương mại Trolox và Vitamin C, giá trị IC_{50} được tính toán. Giá trị IC_{50} của dịch chiết bã trái nhàu là 303 $\mu\text{g/ml}$, trong khi đó giá trị này của Trolox và Vitamin C lần lượt là 153 và 258 $\mu\text{g/ml}$. Như vậy, dịch chiết bã trái nhàu thể hiện khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH yếu hơn Trolox và Vitamin lần lượt là 1,98 và 1,17 lần như được thể hiện trong Hình 6. Điều này có thể lý giải là bởi vì Trolox và Vitamin C là những chất chống oxi hóa thương mại rất mạnh và được tinh chế, trong khi đó

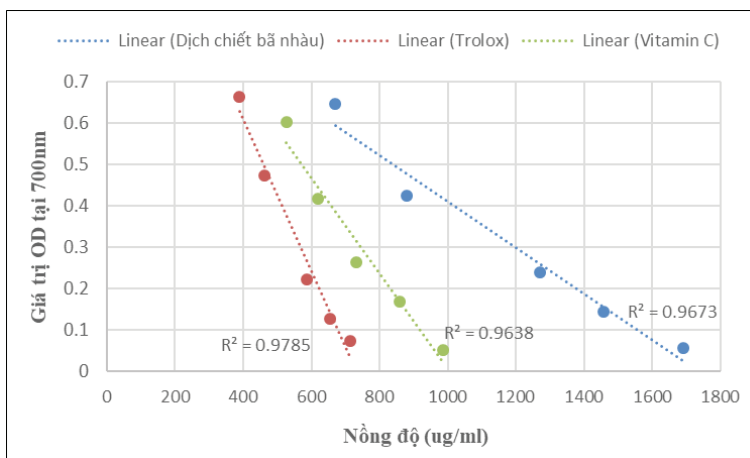


Hình 6. So sánh khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của dịch chiết bã nhàu với Trolox và Vitamin C.

dịch chiết từ bã trái nhàu chỉ là dịch chiết thô, chưa đạt được độ tinh khiết cao. Vì vậy, để cải thiện hoạt tính chống oxy hóa và có thể so sánh với chất chống oxy hóa thương mại thì cần thực hiện các bước tinh sạch dịch chiết thô.

Tổng năng lực khử (RPA) cũng là một phép phân tích nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa trong *in vitro* thường hay sử dụng trong nghiên cứu về chất chống oxy hóa. Một xu hướng tương tự cũng được ghi nhận như đối với khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH. Theo đó, tổng năng lực khử của dịch chiết bã trái nhàu tăng lên cùng với sự tăng của nồng độ (Hình 7). Sự tăng lên của giá trị độ hấp thụ quang học (OD) ở nước song 700 nm cho thấy mức độ khử tăng lên. Mức độ khử càng mạnh thì hoạt tính chống oxy hóa càng cao. Để so sánh với khả năng khử của chất chống oxy hóa thương

mại Trolox và Vitamin C, giá trị IC_{50} được tính toán. IC_{50} là nồng độ ($\mu\text{g/ml}$) của dịch chiết khử được một lượng ion Fe^{2+} thành Fe^{3+} làm tăng giá trị OD 700 nm lên và đạt giá trị 0,50. Dựa vào mối quan hệ tuyến tính giữa giá trị OD 700 và nồng độ của dịch chiết trong điều kiện khảo sát, mối quan hệ này là tuyến tính. Từ đó tính được giá trị IC_{50} của dịch chiết bã trái nhàu là 780 $\mu\text{g/ml}$. Trong khi đó, giá trị này của Trolox và Vitamin C lần lượt là 469 và 551 $\mu\text{g/ml}$. Như vậy, tổng năng lực khử của dịch chiết bã trái nhàu thấp hơn Trolox và Vitamin C lần lượt là 1,66 và 1,42 lần như được thể chỉ ra trong Hình 7. Lý do cho điều này cũng có thể được giải thích tương tự như trường hợp khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH như đã được thảo luận ở trên.



Hình 7. So sánh tổng năng lực khử RPA của dịch chiết bã trái nhàu với Trolox và Vitamin C.

VI. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Điều kiện chiết tối ưu polyphenol từ bã trái nhàu được xác định như sau: Dung môi chiết ethanol 40%, nhiệt độ 80°C, thời gian 40 phút, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1/10 (g/ml). Tại điều kiện chiết tối ưu được thiết lập, hàm lượng polyphenol thu được từ dịch chiết bã trái nhàu đạt được 846 mg GAE/100g chất khô. Dịch chiết thu được từ bã trái nhàu ở điều kiện chiết tối ưu có hoạt tính chống oxy hóa dựa vào phép thử quét gốc tự do DPPH và tổng năng lực khử. Giá trị IC_{50} đạt được đối với khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH và tổng năng lực khử (RPA) lần lượt là 303 và 780 $\mu\text{g/ml}$. Những kết

quả đạt được trong nghiên cứu này cho thấy tiềm năng sử dụng dịch chiết từ bã trái nhàu như một nguồn thu nhận các chất chống oxy hóa mạnh có nguồn tự nhiên và mở rộng phạm vi ứng dụng trong thực phẩm, thực phẩm chức năng và các ứng dụng khác. Các nghiên cứu tiếp theo nên tập trung vào việc tối ưu hóa điều kiện chiết polyphenol từ bã trái nhàu có tính đến sự tương tác giữa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết. Đồng thời, cần phân tích và nhận dạng các chất thuộc nhóm phenolic có trong thành phần dịch chiết thu nhận từ bã trái nhàu và vai trò của chúng tạo nên hoạt tính sinh học quý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Nguyễn Bin (2004). Các quá trình, thiết bị trong công nghệ hóa chất và thực phẩm. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ Thuật.
2. Lại Thị Ngọc Hà (2011). Polyphenol từ lá ôi: Hàm lượng, khả năng kháng oxi hóa và điều kiện tách chiết. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm* 8(4), 37-44.
3. Trương Tuyết Mai, Phạm Lan Anh, Trương Hoàng Kiên, Nguyễn Văn Sỹ, Nguyễn Thị Phương Thúy và Nguyễn Thị Lâm (2012). Xác định hàm lượng polyphenol toàn phần, khả năng triệt tiêu gốc tự do và khả năng ức chế men Alpha-Glucosidase từ lá Vối, lá Ôi và lá Sen. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm* 8(1), 33-38.
4. Nguyễn Xuân Duy và Hồ Bá Vương (2013). Hoạt tính chống oxi hóa và ức chế enzyme polyphenoloxidase của một số loại thực vật ăn được ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 11(3), 364-372.

Tiếng Anh

5. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A. Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K. Norulaini, N. A. N. and Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117(4), 426-436.
6. Amy C.B. (2012). Anticancer Activity of *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit: A Review. *Phytotherapy Research*, 26 (10), pp. 1427 – 1440.
7. Brett L.W., Shixin D., Fumiyuki I., Akemi U., and Claude J.J. (2018). The Potential Health Benefits of Noni Juice: A Review of Human Intervention Studies. *Foods*, 7 (58), DOI:10.3390/foods7040058.
8. Cowan (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4), 564–582.
9. Fu, H., Y. and Shieh, D., E. (2002). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipid*, 9: 35 - 46.
10. Gertenbach, D. D. (2001). Solid–liquid extraction technologies formanufacturing nutraceuticals. In: Mazza, G., Maguer, M. L., Shi, J., editors. *Functional foods: biochemical and processingaspects*. Boca Raton: CRC Press, 331–66.
11. Hui-Yin Chen và Gow-Chin Yen (2007). Antioxidant activity and free radical - scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium Guajava* L.) leaves. *Food Chemistry* 101, 686-694.
12. Mohd Z.Z., Abdul H.A., Osman A., Saari N., and Misran A. (2007). Isolation and identification of antioxidative compound from fruit of Mengkudu (*Morida citrifolia* L.). *International Journal of Food Properties*, 10, pp. 363–373.
13. Oyaizu, M. (1986). Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chroma-tography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35, 771-775.
14. Joon-Kwan Moon and Takayuki Shibamoto (2009). Antioxidant assays for plant and food components: Reviews. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 1655-1666.
15. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol* 299, 152-78.
16. Suganya Tachakittirungrod, Siriporn Okonogi and Sombat Chowwanapoonpohn (2007). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, 103(2), 381-388.
17. Ubirajara L.J., Marcelo F.P., Muhammad W.A. and Shafaq N. (2020). Chemical compounds,

- pharmacological activity and toxicity of *Morinda citrifolia*: A review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 18, pp. 26 – 50.
18. Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., Nunez, M. J. (2005). 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*, 53, 2111-7.
 19. Qian He and Nihorimbere Venant (2004). Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *Journal of Zhejiang University Science* 5, 676-683.
 20. Vuong, Q. V., Sathira Hirun, Paul, Roach, D., Michael, Bowyer, C., Phoebe, A., Phillips and Christopher, Scarlett, J. (2013). Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of Herbal Medicine* 3(3), 104-111.
 21. Vuong, Q. V., Golding, J. B, Stathopoulos, C. E., Nguyen, M. H., Roach, P. D. (2011). Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. *Journal of Separation Science*, 34, 3099-106.
 22. Yanine C.B., Farice V., Ana M.P., Max R., Jean – Marc B., Pierre B. (2006). The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, pp. 645–654.