

TỐI ƯU HÓA ẢNH HƯỞNG CỦA SÓNG SIÊU ÂM ĐẾN QUÁ TRÌNH TRÍCH LY FLAVONOID TRONG RAU ĐẮNG ĐẤT *GLINUS OPPOSITIFOLIUS*

● PHẠM THỊ KIM YẾN - TRẦN ĐỨC DUY - HOÀNG THỊ NGỌC NHƠN

TÓM TẮT:

Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius*) là một loại cây mọc dại, phổ biến ở các miền quê Việt Nam. Trong dân gian, từ lâu loài cây này đã được sử dụng như một loại thảo dược. Các hợp chất flavonoid có vai trò dược lý quan trọng. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định điều kiện tối ưu để trích ly flavonoid tổng từ rau đắng đất bằng sóng siêu âm. Điều kiện trích ly bao gồm 3 yếu tố được khảo sát: tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM) (g/ml), công suất siêu âm (W) và thời gian xử lý siêu âm (phút). Thông qua thử nghiệm yếu tố đơn và phương pháp đáp ứng bề mặt (Response surface methodology - RSM), các điều kiện chiết tối ưu được kết luận như sau: Tỉ lệ NL/DM 1/15.295 (g/ml), công suất 234.627 (W), thời gian 10.434 (phút). Tại điều kiện tối ưu hàm lượng flavonoid tổng (TFC) đạt cực đại là 26.413 (mgQuercetin/gchất khô).

Từ khóa: Flavonoid, rau đắng đất, siêu âm, trích ly, tối ưu hóa.

1. Đặt vấn đề

Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius*) là cây thân thảo, mọc lỏa sát mặt đất, cánh và thân mảnh. Thường mọc ở các tỉnh ven biển hoặc ở các vùng đất cát pha. Dịch chiết từ rau đắng đất có hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa [1]. Rau đắng đất có tác dụng điều trị chứng vàng da, gan nóng, nổi mề đay mẩn ngứa, đau nhức xương khớp và tăng cường chức năng tiêu hóa [2]. Việc sử dụng flavonoid trong chế độ ăn uống có thể làm giảm nguy cơ mắc bệnh mạch vành và những người có hàm lượng flavonoid trong cơ thể cao hơn sẽ ít bị tăng huyết áp [3]. Một số flavonoid đã được phân

lập từ rau đắng đất như kaempferol, vitexin, vicenin, adenosine, L-Phenylalanine [1]. Trong số đó, kaempferol đã được tìm thấy có tác dụng chống viêm, chống ung thư vú [4], vicenin có thể ức chế tế bào ung thư tuyến tiền liệt và vitexin có thể ngăn ngừa một loạt các dòng tế bào ung thư ở người. Mặc dù nhiều nghiên cứu đã đề cập đến các giá trị dược lý cao của flavonoid trong rau đắng đất nhưng có ít nghiên cứu về tối ưu hóa điều kiện trích ly flavonoid từ rau đắng đất.

Trích ly hỗ trợ siêu âm là phương pháp phổ biến được sử dụng trong chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu thực vật.

Wang và cộng sự đã so sánh các cấu trúc vi mô của thực vật được chiết xuất bằng phương pháp sử dụng và không sử dụng sóng siêu âm, kết quả cho thấy rằng chiết xuất có hỗ trợ siêu âm tác dụng tương tự như chiết xuất có hỗ trợ enzyme [5]. Chiết xuất có hỗ trợ siêu âm không chỉ giúp tăng cường sự phân mảnh mà còn hỗ trợ giải phóng, khuếch tán và hòa tan các thành phần bên trong tế bào. Phương pháp này có thể rút ngắn thời gian trích ly, ngoài ra nó không đòi hỏi thiết bị hoặc kỹ thuật phức tạp, điều này làm giảm phần lớn chi phí sản xuất so với các phương pháp khác. Do đó, chiết xuất sử dụng sóng siêu âm được sử dụng trong nghiên cứu để trích ly flavonoid từ rau đắng đất.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Rau đắng đất (*Glinus Oppositifolius*) dạng tươi, màu xanh lục, được thu hái tại thị trấn Long Hải, huyện Long Điền, tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu. Sau khi thu về, rau được rửa sạch, để ráo nước, sấy khô ở 60°C, xay nhỏ, bảo quản trong túi PA tránh ánh sáng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích flavonoid bằng sóng siêu âm

Thí nghiệm này thực hiện khảo sát 3 yếu tố gồm: tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM), công suất siêu âm và thời gian siêu âm. Chúng tôi tiến hành khảo sát lần lượt các yếu tố trong bằng cách thay đổi từng yếu tố và giữ các biến khác ở một giá trị cố định. Tỉ lệ NL/DM được khảo sát ở các mức 1/10, 1/15, 1/20, 1/25, công suất vi sóng được khảo sát ở các mức 150W, 187.5W, 225W, 262.5W, 300W và thời gian xử lý được khảo sát ở các mức 3 phút, 5 phút, 7 phút, 9 phút, 12 phút, 15 phút. Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, lấy sai số và kết quả trung bình. Kết quả sẽ được phân tích ANOVA để xác nhận tính hợp lệ.

2.2.2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu

Phương pháp RSM được sử dụng để tối ưu điều kiện trích ly flavonoid. Ba thông số khảo sát: tỉ lệ NL/DM, công suất và thời gian siêu âm. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu trực tâm quay (RCCD). Quy trình xây dựng ma trận thiết kế 18 thí nghiệm với các phương pháp thống kê toán học.

Phương trình hồi quy được biểu diễn:

$$A = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

Trong đó, A là hàm mục tiêu, X_i và X_j là các mức của biến đại diện cho ảnh hưởng của biến lên hàm mục tiêu, b₀ là hằng số, b_i, b_{ii} và b_{ij} là các hệ số của phương trình.

Trong tất cả các thí nghiệm trên, rau đắng đất đã xử lý được đem đi trích ly với các điều kiện khác nhau. Sau đó, được ly tâm loại bỏ phần chất rắn thu được dịch chiết thô, dịch chiết này được sử dụng để tiến hành xác định hàm lượng flavonoid tổng số.

2.2.3. Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid tổng

Tổng hàm lượng flavonoid (TFC) của dịch trích rau đắng đất được xác định theo phương pháp của Zhishen [6]. Hàm lượng của flavonoid tổng trong dịch trích rau đắng đất được tính dựa trên phương trình đường chuẩn và được biểu thị dưới dạng miligam Quercetin tương đương (mg QE/g).

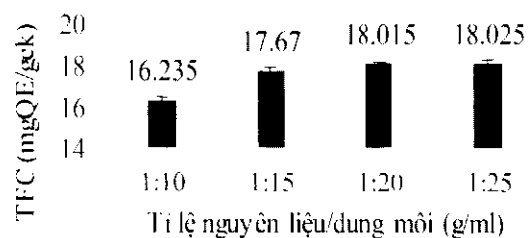
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích flavonoid bằng sóng siêu âm

3.1.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ NL/DM đến quá trình trích ly flavonoid bằng sóng siêu âm

Tỷ lệ NL/DM khác nhau có thể ảnh hưởng đáng kể đến khả năng trích ly. Khi lượng dung môi ít sẽ dẫn đến việc trích ly không hoàn toàn. Tuy nhiên, khi dung môi dư thừa, khả năng trích ly sẽ không tăng hoặc tăng không đáng kể, dẫn đến sự lãng phí dung môi.

Hình 1: Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến quá trình trích ly flavonoid bằng sóng siêu âm

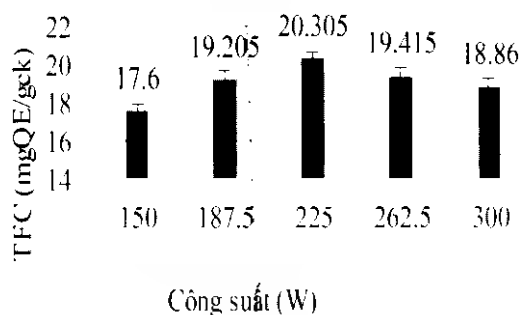


Kết quả ở Hình 1 chỉ ra rằng khi tỷ lệ dung môi tăng từ 1/10 lên 1/15 hàm lượng flavonoid tăng từ 16.23 (mgQE/gck) lên 17.67 (mgQE/gck). Do sự tăng tốc độ truyền khối và khuếch tán của hợp chất flavonoid khi có sự gia tăng của chất lỏng. Tuy nhiên, khi tỷ lệ tiếp tục tăng, hàm lượng flavonoid tăng không đáng kể, nhưng sẽ tốn nhiều dung môi, năng lượng và thời gian xử lý trích ly. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đây. Do đó, tỷ lệ NL/DM 1/15 (g/ml) được chọn cho quá trình trích ly flavonoid.

3.1.2. Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến hiệu quả trích ly flavonoid tổng

Khi tăng công suất siêu âm, nhiệt độ cũng sẽ tăng dẫn đến độ dính và sức căng bề mặt của dung môi giảm, độ hòa tan và độ khuếch tán của flavonoid được tăng lên, do đó hàm lượng flavonoid tăng lên. Tuy nhiên, công suất cao hơn dẫn đến quá trình trích ly flavonoid giảm.

Hình 2: Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến quá trình trích ly flavonoid

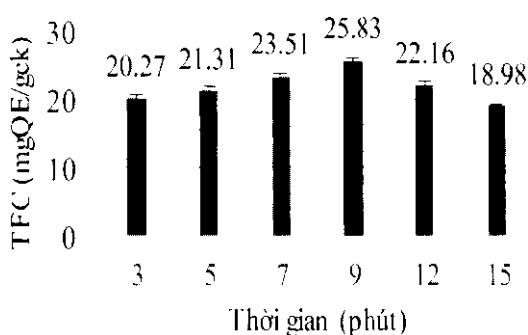


Theo Hình 2, khi công suất tăng từ 150 W lên 225 W hàm lượng flavonoid trích ly được tăng từ 17.65 mgQE/gck lên 20.31 mgQE/gck do công suất thích hợp làm giảm độ nhớt của dung môi, tốc độ chuyển động phân tử trong vật liệu tăng dần, có lợi cho sự khuếch tán của chất tan trong quá trình chiết, do đó tăng khả năng hòa tan của flavonoid trong dung dịch. Khi công suất siêu âm vượt quá 225W, công suất cao phá hủy cấu trúc của flavonoid, làm biến tính flavonoid và làm giảm tốc độ chiết. Do đó, công suất 225W được chọn là điểm dừng của yếu tố công suất khi cho hiệu quả tối đa ở thí nghiệm này.

3.1.3. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến quá trình trích ly flavonoid tổng

Thời gian trích ly phù hợp có thể cải thiện tương tác giữa dung môi và mẫu, có thể tăng tốc độ hòa tan của các hợp chất. Tuy nhiên, thời gian chiết càng lâu nguy cơ oxy hóa flavonoid càng cao, điều này dẫn đến hiệu lực xử lý thấp hơn. (Hình 3)

Hình 3: Ảnh hưởng của thời gian xử lý siêu âm đến quá trình trích ly flavonoid



Khi thời gian xử lý tăng, hàm lượng flavonoid thu được tăng. Do quá trình trích ly yêu cầu về thời gian đủ để sóng siêu âm có thể hòa tan được các chất trong bột khô vào dung môi. Nhưng hàm lượng flavonoid tổng giảm nhẹ sau 9 phút vì flavonoid có thể bị phá hủy bởi năng lượng tạo ra bởi sóng siêu âm. Do đó, chọn 9 phút là thời gian siêu âm để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Tối ưu hóa quá trình trích ly flavonoid từ rau đắng đất bằng sóng siêu âm

Các yếu tố được lựa chọn khảo sát là tỷ lệ NL/DM (X1), công suất siêu âm (X2), thời gian siêu âm (X3) tại 3 mức (Bảng 1). Dựa trên kết quả thực nghiệm yếu tố đơn, xác định giá trị biên của các yếu tố trích ly. Ma trận thực nghiệm để tối ưu được thiết kế theo mô hình Box - Behnkens.

Mô hình bao gồm 18 thí nghiệm, trong đó có 4 thí nghiệm lại ở tâm (Bảng 2). Thí nghiệm lặp lại 3 lần đối với mỗi nghiệm thức. Hàm mục tiêu (Y) là hàm lượng flavonoid sau khi trích ly (mgQE/gck). Kết quả kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy với thực nghiệm (Bảng 3) cho thấy hệ số xác định của hàm mục tiêu là

Bảng 1. Giá trị mã hóa và các mức của ma trận tối ưu

Yếu tố khảo sát	Ký hiệu	Giá trị khảo sát		
		-1	0	1
Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	X_1	10	15	20
Công suất siêu âm (W)	X_2	187.5	225	262.5
Thời gian xử lý siêu âm (phút)	X_3	7	9	12

Bảng 2. Thiết kế thực nghiệm theo mô hình Box-Behnken và kết quả tối ưu

STT	Biến mã hóa			Hàm lượng Flavonoid Y (mgQE/g)
	X_1	X_2	X_3	
1	-1	-1	-1	21.98
2	-1	-1	1	23.67
3	-1	1	-1	23.73
4	-1	1	1	24.35
5	1	-1	-1	21.88
6	1	-1	1	23.95
7	1	1	-1	23.62
8	1	1	1	24.78
9	-1.68	0	0	23.22
10	1.68	0	0	23.57
11	0	-1.68	0	24.59
12	0	1.68	0	25.24
13	0	0	-1.68	24.51
14	0	0	1.68	25.88
15	0	0	0	26.17
16	0	0	0	25.97
17	0	0	0	26.11
18	0	0	0	26.44

$R^2 = 0.88608$. Hiệu quả thu nhận flavonoid được xác định thông qua tối ưu hóa trong phần mềm JMP 10.

Bảng 3 trình bày kết quả phân tích phương sai ANOVA ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm mục tiêu. Dựa vào kết quả xử lý số liệu, phương trình hồi quy (với X_1, X_2, X_3 là biến mã), các yếu tố không ảnh hưởng được loại khỏi phương trình ($P < 0.05$), thực nghiệm đạt được như sau:

$$Y = 26.216 + 0.4462X_2 + 0.574X_3 - 1.178X_1^2 - 0.64X_2^2 - 0.542X_3^2$$

Bảng 3. Phân tích ANOVA của mô hình hồi quy

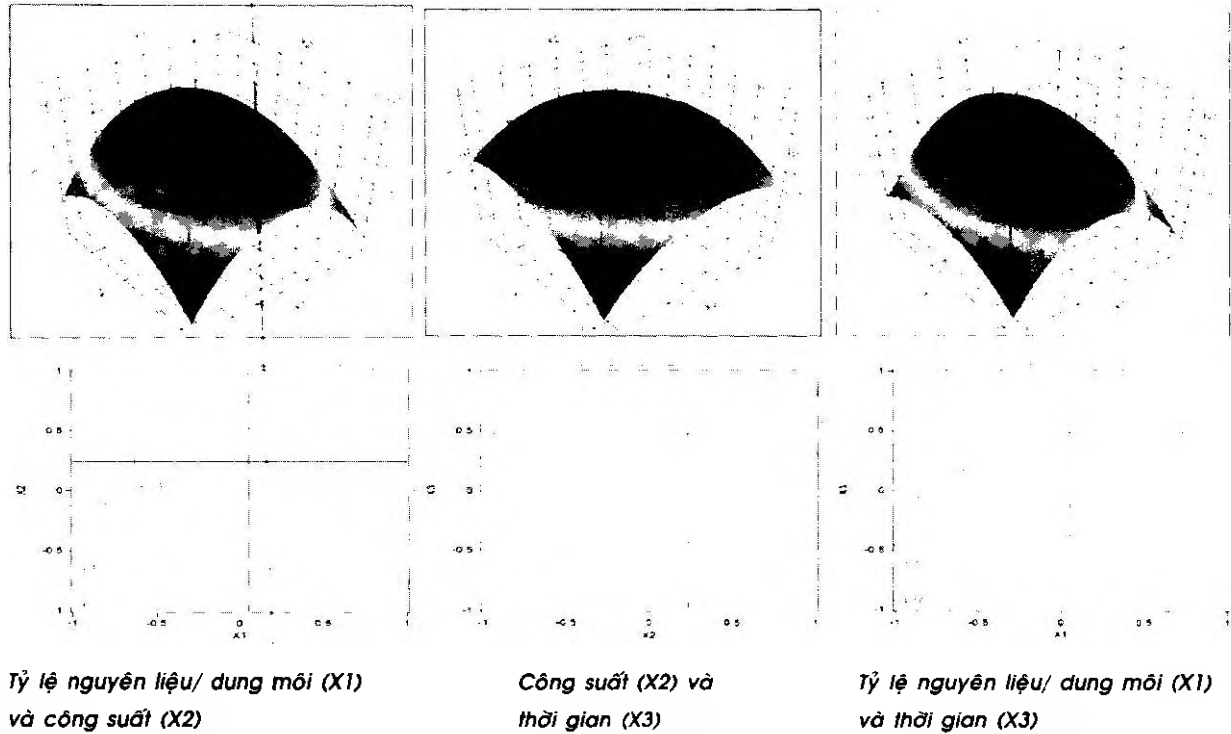
	F	P
Phân tích hồi quy	6.9138	0.0061
Phân tích "Lack of Fit"	18.0871	0.0190

Kết quả tối ưu cho thấy, khi tổ hợp cả 3 yếu tố thí nghiệm, hàm lượng flavonoid thu được cao nhất là 26.413 (mgQE/g) với điều kiện trích ly tỷ lệ NL/DM là 1/15.295 (g/ml), công suất siêu âm là 234.627 (W), thời gian xử lý siêu âm là 10.434 (phút).

4. Kết luận

Với các kết quả thực nghiệm thu được, nghiên cứu xác định được sự tương tác của các yếu tố tỷ lệ NL/DM, công suất siêu âm, thời gian siêu âm ở điều kiện tối ưu lần lượt là 1/15.295 (g/ml), 234.627 (W), 10.434 (phút). Nghiên cứu là tiền đề cho quá trình thu nhận flavonoid từ rau đắng đất hương tới ứng dụng trong thực phẩm và dược phẩm ■

Hình 2: Bề mặt đáp ứng và hình chiếu 2D của sự ảnh hưởng giữa của yếu tố khảo sát đến hàm lượng flavonoid tổng



TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. T. Chakraborty and S. Paul. (2017). *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.: A Repository of Medicinal Potentiality. *International Journal of Phytomedicine*, 9(4), 543.
2. B. Dutta, M. Ghosal, P. Chakrabarty, and P. Mandal. (2012). Anthelmintic and free-radical scavenging potential of various fractions obtained from foliar parts of *Glinus oppositifolius* (Linn.) DC. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 233-239.
3. A. Cassidy et al. (2011). Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93(2), 338-347.
4. S.-H. Kim, K.-A. Hwang, and K.-C. Choi. (2016). Treatment with kaempferol suppresses breast cancer cell growth caused by estrogen and triclosan in cellular and xenograft breast cancer models. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 28, 70-82.
5. T. Wang, H. Liang, and Q. Yuan. (2011). Optimization of ultrasonic-stimulated solvent extraction of sinigrin from Indian mustard seed (*Brassica Juncea* L.) using response surface methodology. *Phytochemical Analysis*, 22(3), 205-213.
6. Jia, Z., Tang, M., & Wu, J. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.

Ngày nhận bài: 8/6/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 18/6/2020

Ngày chấp nhận đăng bài: 28/6/2020

Thông tin tác giả:

1. PHẠM THỊ KIM YẾN

2. ThS. TRẦN ĐỨC DUY

3. ThS. HOÀNG THỊ NGỌC NHƠN

Khoa Công nghệ Thực phẩm

Trường Đại học Công nghệ Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

**OPTIMIZING CONDITIONS FOR EXTRACTING
THE TOTAL FLAVONOIDS FROM *GLINUS OPPOSITIFOLIUS*
BY USING THE ULTRASOUND - ASSISTED
EXTRACTION METHOD**

● PHAM THI KIM YEN

Faculty of Food Technology,
Ho Chi Minh City University of Food Industry

● Master. TRAN DUC DUY

Faculty of Food Technology,
Ho Chi Minh City University of Food Industry

● Master. HOANG THI NGOC NHON

Faculty of Food Technology,
Ho Chi Minh City University of Food Industry

ABSTRACT:

Glinus oppositifolius which is a wild-growing plant in the countryside of Vietnam is used as a herbal medicine. The flavonoids have important pharmacological characteristics. This study is to determine the optimal conditions for extracting the total flavonoids from *Glinus oppositifolius* by using the ultrasound - assisted extraction method. The examined extraction conditions include the solid/liquid ratio (NL/DM), ultrasonic power (W) and extraction time (minutes). By using the single factor test and the response surface methodology (RSM), this study finds that the optimal extraction conditions are the liquid/solid ratio at 15.295/1 (ml/g), the ultrasonic power of 234.627 (W) in 10.434 minutes. With the most optimal extraction conditions, the maximum obtained total flavonoid content (TFC) is 26.413 (mg Quercetin / g dry matter).

Keywords: Flavonoid, *Glinus oppositifolius*, extration, ultrasound, optimization.