

TỐI ƯU ẢNH HƯỞNG CỦA VI SÓNG ĐẾN TRÍCH LY FLAVONOID TỔNG TRONG LÁ ĐINH LĂNG RẰNG CỦA *POLYSCIAS SERRATA BALF*

● NGUYỄN THỊ HẢI HÒA - NGUYỄN THỊ TÀI

TÓM TẮT:

Nghiên cứu này nhằm xác định các điều kiện tối ưu ảnh hưởng của vi sóng đến quá trình trích ly flavonoid tổng từ lá đinh lăng. Ba yếu tố chính được khảo sát ở đây là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM), thời gian xử lý vi sóng (giây) và công suất vi sóng (W), các yếu tố khác được cố định dựa trên kết quả của khảo sát trước đó. Hàm mục tiêu là hàm lượng flavonoid tổng (TFC, mg QE/gck). Các thí nghiệm được thiết kế theo phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology-RSM) với mô hình tâm phức hợp (Central composite design - CCD). Điều kiện tối ưu được dự đoán từ mô hình thực nghiệm như sau: hàm lượng TFC đạt giá trị cực đại là 19.118 mg QE/gck với 1/33 g/ml là tỉ lệ NL/DM sử dụng tại công suất vi sóng là 506 W với thời gian xử lý 88.46 giây.

Từ khóa: Flavonoid, *Polyscias serrata Balf*, trích ly, vi sóng.

1. Mở đầu

Polyscias serrata Balf là một trong những cây thuốc thuộc họ nhân sâm (Araliaceae) có nguồn gốc từ đảo Polynesian ở Thái Bình Dương và được lan truyền rộng rãi trên các khu vực. Ở Việt Nam, cây này được trồng chủ yếu làm kiếng, hàng rào. Bên cạnh đó, cây đinh lăng được sử dụng rộng rãi trong dân gian với mục đích tăng cường sức khỏe, lưu thông khí huyết, giảm đau khớp,... Trong y học phương Đông, đinh lăng được sử dụng như một vị thuốc bổ, kích thích tiêu hóa, giải độc, kháng khuẩn, kháng viêm... [1]. Các hợp chất chủ yếu trong đinh lăng là: alkaloid, glucoside, tanin,

vitamin, acid amin, carotenoid, saponin, flavonoid,... [2].

Các nhà hóa sinh nghiên cứu cho rằng, flavonoid là những chất chống oxy hóa mạnh và được ứng dụng trong y học để điều trị một số bệnh như viêm nhiễm, dị ứng, loét dạ dày và hành tá tràng, giúp cơ thể điều hòa các quá trình chuyển hóa, chống lão hóa, làm bền thành mạch máu, giảm lượng cholesterol trong máu [3]. Tuy nhiên, chúng tương đối nhạy cảm với nhiệt độ và dễ bị oxy hóa ở nhiệt độ cao trong thời gian dài. Do đó, các phương pháp chiết xuất phổ biến như chiết nóng và chiết siêu âm bằng gia nhiệt có thể

không hiệu quả. Ngày nay, phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng (MAE) cho thấy nhiều ưu điểm, vì thời gian chiết là ngắn, các hợp chất hoạt động mạnh hơn, có thể được bảo quản và lượng dung môi sử dụng thấp hơn so với các phương pháp truyền thống. Ngoài ra, phương pháp này cũng có khả năng thích ứng không chỉ ở phòng thí nghiệm, mà còn ở quy mô công nghiệp, do đó mang lại hiệu quả cao. Trích ly bằng phương pháp vi sóng được xem là kỹ thuật trích ly nhanh, hiệu quả, cho tiến trình chiết xuất flavonoid trong lá đinh lăng và đây tiềm năng nhưng ở Việt Nam có rất ít các nghiên cứu liên quan được tiến hành.

Mục tiêu của nghiên cứu này là thiết lập các thông số tối ưu hóa vi sóng chiết xuất flavonoid tổng từ lá đinh lăng bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với dung môi trích ly là nước để phát triển và ứng dụng như nguồn nguyên liệu chứa chất chống oxy hóa tiềm năng mới.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Đinh lăng lá răng được thu mua ở ấp Thanh Tịnh, xã Tân Thuyền, huyện Chợ Lách, tỉnh Bến Tre. Cây tươi sau khi thu hái, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, để ráo, sấy ở 60°C nghiền thành bột, đồng nhất mẫu và bảo quản tránh ánh sáng trong các túi PA ở nhiệt độ phòng.

2.2. Hóa chất

Methanol (99%, Trung Quốc), NaOH (99%, Trung Quốc), $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ (99%, Trung Quốc), $NaNO_2$ (99%, Trung Quốc), Quercetin (99%, Việt Nam).

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly bằng vi sóng

Thí nghiệm được tiến hành khảo sát bao gồm ba yếu tố là tỉ lệ NL/DM, công suất và thời gian vi sóng. Cân 1g nguyên liệu (tính theo chất khô), bổ sung dung môi với tỉ lệ NL/DM khảo sát ở 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50, 1/60, tiến hành siêu âm ở mức công suất khảo sát 150W, 300W, 450W, 600W, 750W trong thời gian khảo sát 20, 40, 60, 80, 100 giây. Hiệu suất quá trình trích ly được đánh giá qua hàm lượng flavonoid tổng (TFC). Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần và

lấy kết quả trung bình. Kết quả sẽ được kiểm tra với phân tích phương sai (ANOVA) để xác nhận tính hợp lệ.

2.3.2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa

Mục đích thí nghiệm là xác định điều kiện vi sóng tối ưu để cho hiệu suất trích ly hàm lượng flavonoid cao nhất. Phương pháp RSM được sử dụng để tối ưu điều kiện trích ly flavonoid từ lá đinh lăng với 3 yếu tố (X_1 , X_2 , X_3) theo mô hình CCD. (X_1 : Tỉ lệ NL/DM (g/ml), X_2 : Công suất vi sóng (W), X_3 : Thời gian vi sóng (giây)).

Điều kiện tối ưu được dự đoán và xác minh lại bằng thực nghiệm. Phần mềm quy hoạch thực nghiệm và xử lý thống kê được sử dụng là JMP 10.0.

2.4. Xác định hàm lượng TFC

Tổng hàm lượng flavonoid được xác định theo phương pháp so màu như mô tả bởi Chang và cộng sự dựa trên nguyên tắc flavonoid tạo phức màu với dung dịch $AlCl_3$ [4]. Hàm lượng flavonoid tổng trong dịch trích đinh lăng được tính dựa trên phương trình đường chuẩn và được biểu thị dưới dạng miligam Quercetin tương đương (mg QE/gck).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Phần mềm quy hoạch thực nghiệm và xử lý thống kê được sử dụng là JMP 10.0, SPSS ver. 22 và MS Excel 2010. Mỗi thí nghiệm tiến hành lặp lại 3 lần, kết quả được đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp thống kê ANOVA ($\alpha = 5\%$).

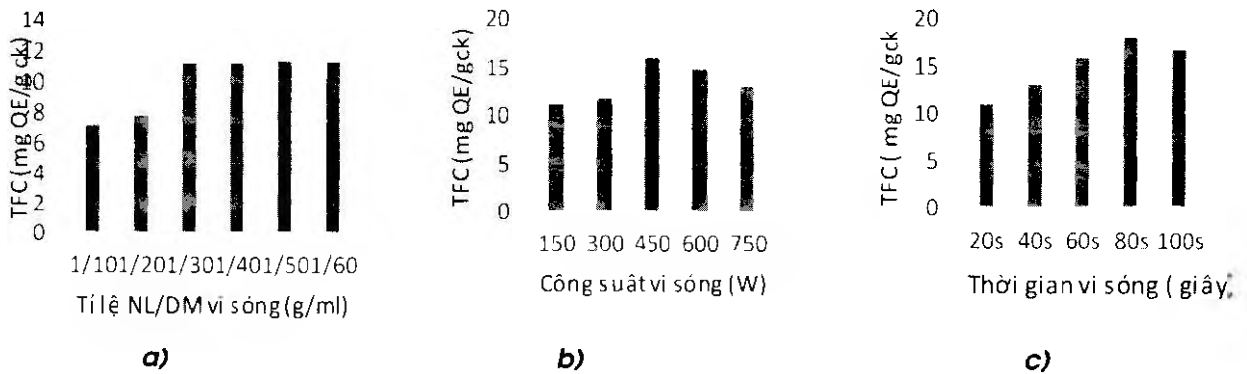
3. Kết quả và thảo luận

3.3. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly vi sóng

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố tỉ lệ NL/DM, công suất và thời gian vi sóng được trình bày ở Hình 1(a, b, c).

Hàm lượng flavonoid tăng khi tăng tỉ lệ dung môi (Hình 1a). Tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy gradient nồng độ càng tăng, dẫn đến tốc độ khuếch tán trong quá trình trích ly được tốt hơn. Hàm lượng TFC thu được ở tỉ lệ 1/10 chỉ là 7.315 mg QE/gck, khi tăng lên 1/30 thì hàm lượng thu được cao hơn với giá trị đạt được là 11.294 mg QE/gck. Tuy nhiên, tỉ lệ ở 1/40, 1/50, 1/60 cho kết quả không có sự sai khác đáng kể so với tỉ lệ

Hình 1: Ảnh hưởng của tỉ lệ NL/DM (g/ml) đến hàm lượng TFC (a), ảnh hưởng của công suất vi sóng đến hàm lượng TFC (b), ảnh hưởng của thời gian vi sóng đến hàm lượng TFC (c)



1/30. Mặc dù chiết xuất với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi cao hơn có thể trích ly nhiều hơn hợp chất flavonoid, nhưng sẽ tốn nhiều dung môi, năng lượng và thời gian để xử lý dịch trích. Do đó, 1/30 được chọn làm tỉ lệ NL/DM cho các thí nghiệm tiếp theo. Tác giả Salomon M.B. và cộng sự cũng chọn tỉ lệ 1/30 (g/ml) trong nghiên cứu của mình [5].

Công suất vi sóng ảnh hưởng đến hàm lượng TFC được thể hiện qua Hình 1b. Khi công suất vi sóng dao động từ 150 - 450 W, TFC thu được tăng từ 11.287 mg QE/gck đến 16.09 mg QE/gck. Tuy nhiên, khi công suất vi sóng tăng thì nhiệt độ tạo tâm càng lớn và hàm lượng TFC có xu hướng giảm đi rõ rệt. Kết quả này phù hợp với kết quả của Su cùng cộng sự (2018) [6] và kết quả của Alara O.R cùng cộng sự [7]. Như vậy, mức công suất 450 W là điểm dừng của yếu tố công suất khi cho hiệu quả tối đa ở thí nghiệm này.

Hình 1c thể hiện hiệu suất trích ly flavonoid ở các mức thời gian vi sóng khác nhau. Kết quả cho thấy, flavonoid tổng cao nhất tại thời gian trích ly là 80 giây hàm lượng đạt 18.23 mg QE/gck. Khi thời gian chiết là 100 giây, hàm lượng flavonoid giảm xuống còn 16.822 mg QE/gck. Điều này có thể giải thích bởi thực tế khi thời gian chiết vượt quá một giới hạn nhất định, một số flavonoid bị phân hủy, làm giảm hàm lượng. Quy luật này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Wang và cộng sự trong nghiên cứu về chiết xuất polyphenol được hỗ trợ bằng lò vi sóng từ lá trà [8]. Đồng thời, kết quả phù hợp với kết quả của Salomon M. B. [5]. Do đó, mức thời gian 80 giây cho hiệu quả trích ly cao nhất.

3.4. Tối ưu hóa quá trình trích ly vi sóng (MAE)

Ba thông số được chọn để tiến hành tối ưu hóa là tỉ lệ NL/DM (g/ml), công suất (W) và thời gian vi sóng (giây) bằng phương pháp RMS theo mô hình tâm phức hợp CCD. Kết quả thí nghiệm tối ưu hóa được trình bày ở Bảng 1 theo mô hình tâm phức CCD.

Theo Joglekar và May, R² là thước đo cho mức độ phù hợp của mô hình và ít nhất phải bằng 0.8 và thông số Adeq Precision lớn hơn 4 là cần thiết. Hệ số tương quan R² đạt 0.877, chứng tỏ mô hình tối ưu là đáng tin cậy [9]. Giá trị p của mô hình là 0.0058 (<0.05) và đánh giá Lack of fit với giá trị p là 0.15 (>0.05), cho thấy mô hình hồi quy rất có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95 % [9]. Dựa trên kết quả xử lý số liệu, các hệ số b không có nghĩa (p < 0.05) được loại bỏ và phương trình hồi quy (với X₁, X₂, X₃ là biến mã) thực nghiệm đạt được như sau:

$$Y = 18.778 + 0.722X_2 + 0.691X_3 - 1.188 X_1^2 - 1.23 X_2^2 - 1.124X_3^2$$

Các hệ số của phương trình hồi quy cho thấy các nhân tố khảo sát có ảnh hưởng mạnh đến quá trình tách chiết flavonoid. Cụ thể, X₂, X₃ có nhiều ảnh hưởng phức tạp khi 2 nhân tố này có tương tác với nhau và vừa ảnh hưởng tích cực (+) và tiêu cực (-) đến hàm mục tiêu. X₁ ít ảnh hưởng hơn 2 nhân tố còn lại khi không có tương tác và hệ số b1 khá thấp (+0.4559). Theo đó, ảnh hưởng của thời gian lên TFC có xu hướng không giống nhau ở các mức công suất khác nhau: cụ thể, công suất càng cao thì thời gian để hàm lượng TFC đạt cao nhất càng ngắn. Tuy nhiên, như đã phân tích về vai trò của X₂

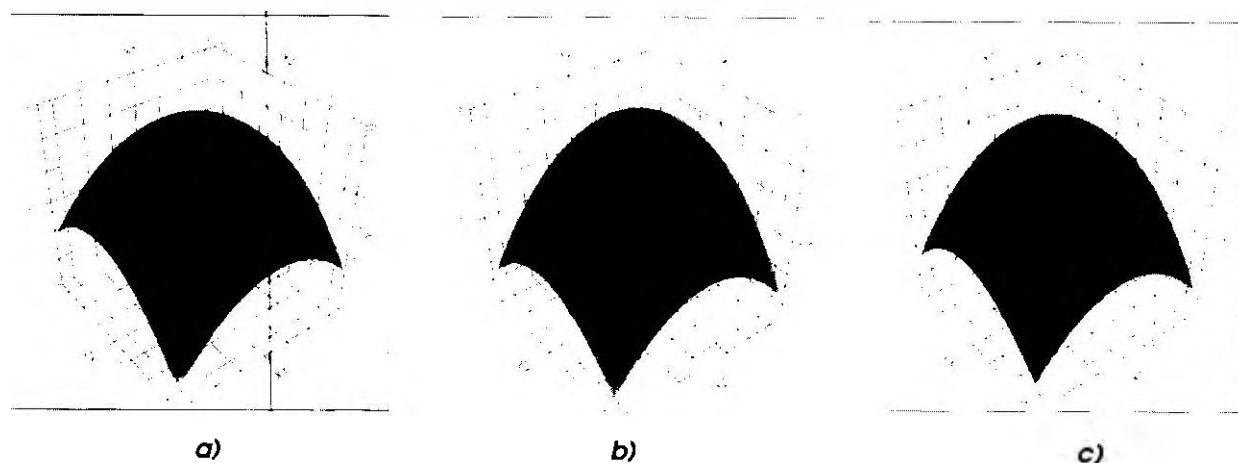
Bảng 1. Kết quả mô hình tối ưu hóa quá trình trích ly flavonoid

No	Biến chuẩn			YTFC (mgQE/gck)
	X ₁ (Tỉ lệ NL/DM, g/ml)	X ₂ (Công suất, W)	X ₃ (Thời gian, s)	
1	20	300	60	14.61
2	20	300	100	15.26
3	20	600	60	15.72
4	20	600	100	16.35
5	40	300	60	14.79
6	40	300	100	15.09
7	40	600	60	14.24
8	40	600	100	18.11
9	13	450	80	13.25
10	49	450	80	16.78
11	30	198	80	13.35
12	30	702	80	16.44
13	30	450	46	14.01
14	30	450	114	16.38
15	30	450	80	18.55
16	30	450	80	19.05
17	30	450	80	18.89
18	30	450	80	18.76

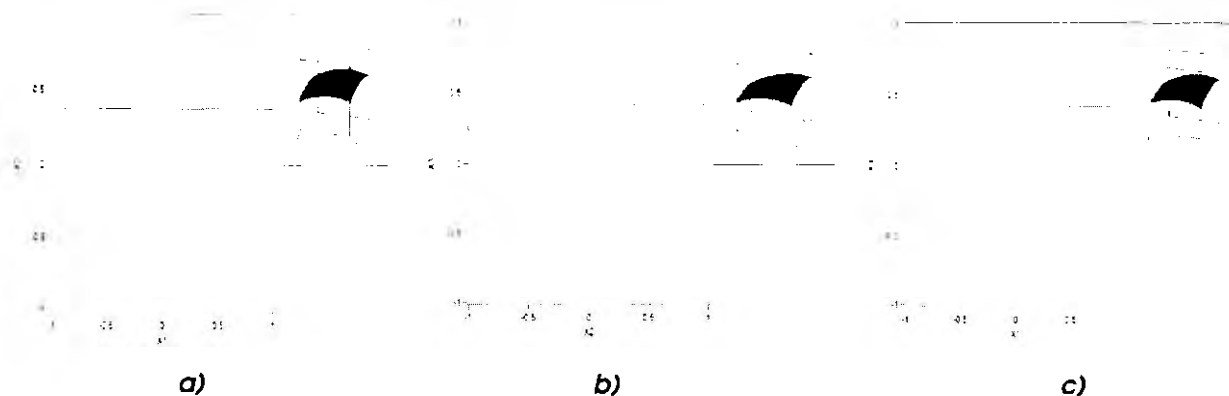
và X₃ trong phương trình hồi quy, khi công suất và thời gian vi sóng tăng thì hiệu quả thu nhận flavonoid tăng, nhưng khi 2 nhân tố này đạt đến một giới hạn nhất định thì hiệu quả thu nhận flavonoid sẽ có xu hướng giảm. Hình 2 và Hình 3 cũng thể hiện rõ điều này và dễ dàng nhận thấy có sự xuất hiện miền tối ưu trong các đồ thị trên.

Với sự hỗ trợ của phần mềm JMP 10, điều kiện tối ưu được xác định như sau: tỉ lệ NL/DM là 1/33 g/ml (X₁= 0.26159), công suất 506 W (X₂= 0.37355) và thời gian 88.46 giây (X₃= 0.42309). Ở điều kiện này, hàm lượng TFC dự đoán thu nhận cao nhất bằng 19.118 mg QE/gck. Kết quả thu được cho thấy cây đinh lăng lá răng có tổng hàm lượng flavonoid cao hơn một số loài thực vật và thảo dược khác. Cụ thể, một số loại cây thảo dược ở Ấn Độ trong nghiên cứu của Sulaiman cùng cộng sự cho hàm lượng TFC tương ứng là *Caesalpinia sappan* L. (7.58 mg QE/100 gck), *Gmelina arborea* Roxb. (2.65 mg QE/100gck),... [10] và nghiên cứu của Aryal cùng cộng sự về một số loại rau dại gồm *Basella alba* (6.97 mg QE/gck), *Ipomoea aquatica* (6.61 mg QE/gck),... [11]. Chiết xuất với sự hỗ trợ của lò vi sóng trong nghiên cứu của Wang và cộng sự đã chứng minh là hiệu quả hơn so với các kỹ thuật chiết truyền thống [8]. Trong nghiên cứu khác của Hemwimon, chiết xuất vi sóng anthraquinone từ *Morinda citrifolia* cho hiệu suất tốt hơn so với chiết xuất có hỗ trợ siêu âm [12]. Do đó, về mặt tổng hàm lượng flavonoid được hỗ trợ bằng vi sóng được đề xuất là phương pháp hiệu quả.

Hình 2: Bề mặt đáp ứng của sự ảnh hưởng giữa tỉ lệ NL/DM-Công suất (a), Công suất -Thời gian (b), tỉ lệ NL/DM-Thời gian (c) lên hàm lượng TFC



Hình 3: Hình chiếu 2D của sự ảnh hưởng giữa tỉ lệ NL/DM-Công suất (a), Công suất-Thời gian (b), tỉ lệ NL/DM-Thời gian (c) lên hàm lượng TFC



4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã tìm được thông số tối ưu của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi, công suất và thời gian vi sóng trong việc chiết xuất

tổng flavonoid từ lá đinh lăng. Nghiên cứu này mở ra hướng tận dụng nguồn nguyên liệu tự nhiên để tạo ra các sản phẩm có hoạt tính sinh học có giá trị ứng dụng trong công nghiệp ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. P. H. Hộ (2003). *Cây cỏ Việt Nam*. NXB Trẻ, 516 - 518.
2. S. Dahanukar, R. Kulkarni, and N. Rege. (2000). Pharmacology of medicinal plants and natural products. *Indian Journal of Pharmacology*, 32(4), S81-S118.
3. P.-G. Pietta. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.
4. C.-C. Chang, M.-H. Yang, H.-M. Wen, and J.-C. Chern. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food And Drug Analysis*, 10, 3.
5. M. B. Salomon, E. TALLA, M. B. NGASSOUM, T. T. R. Karole, J. N. NYEMB, and Y. MAHMOUT. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of total phenol content and total flavonoids content from *Anacardium occidentale* L.(Anacardeaceae) using response surface methodology. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 7(4), 800-809.
6. D. Su, H. Li, and C. Lu. (2018). Microwave Extraction of Polyphenol from Pomegranate Seed. *Asian Journal of Botany*, 1, 1, 36-46.
7. O. Alara, N. Abdurahman, S. A. Mudalip, and O. Olalere. (2018). Microwave-assisted extraction of *Vernonia amygdalina* leaf for optimal recovery of total phenolic content. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 10, 16-24.
8. L. Wang, P. Qin, and Y. Hu. (2010). Study on the microwave-assisted extraction of polyphenols from tea. *Frontiers of Chemical Engineering in China*, 4(3), 307-313.
9. N. Caporaso, A. Genovese, R. Burke, C. Barry-Ryan, and R. Sacchi. (2016). Effect of olive mill wastewater phenolic extract, whey protein isolate and xanthan gum on the behaviour of olive O/W emulsions using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 61, 66-76.
10. C. Sulaiman and I. Balachandran. (2012). Total phenolics and total flavonoids in selected Indian medicinal plants. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 74(3), 258.

11. S. Aryal, M. K. Baniya, K. Danekhu, P. Kunwar, R. Gurung, and N. Koirala. (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96.
12. S. Hemwimon, P. Pavasant, and A. Shotipruk. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, 1, 44-50.

Ngày nhận bài: 6/6/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 16/6/2020

Ngày chấp nhận đăng bài: 26/6/2020

Thông tin tác giả:

1. ThS. NGUYỄN THỊ HẢI HÒA

2. NGUYỄN THỊ TÀI

Khoa Công nghệ Thực phẩm

Trường ĐH Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

THE OPTIMAL CONDITIONS FOR THE TOTAL FLAVONOID EXTRACTION FROM *POLYSCIAS SERRATA* BALF LEAVES BY USING THE MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION METHOD

● Master. NGUYEN THI HAI HOA

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

● NGUYEN THI TAI

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

ABSTRACT:

This study determines the optimal conditions for the total flavonoid extraction from *Polyscias Serrata* Balf leaves by using the microwave assisted extraction (MAE) method. Three main examined factors in this study are material / solvent ratio (g/ml), microwave time (seconds) and microwave power (W) while other examined factors are based on results of previous studies. This study's objective function is the total flavonoid content (TFC, milligram, QE/gck). This study's experiments were conducted according to the response surface methodology (RSM) based on the central composite design (CCD). The study's empirical model predicts that the optimal conditions are the maximum TFC at 19.118 mg QE/gck with the ratio of materials / solvents at 1/33 g/ml, the microwave power of 506 W in 88.46 seconds.

Keywords: Flavonoid, *Polyscias Serrata* Balf, extract, microwave.