

# TỐI ƯU HÓA CÁC THÔNG SỐ TRONG QUÁ TRÌNH CHIẾT INULIN, FRUCTAN, CHẤT CHIẾT HÒA TAN TRONG RỄ ĐÀNG SÂM (*Codonopsis javanica*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG VỚI THIẾT KẾ BOX BEHNKEN

Nguyễn Thị Thắng Long<sup>1</sup>, Nguyễn Tri Minh<sup>1</sup>,

Lê Như Bích<sup>1</sup>, Trương Đông Phương<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Đàng sâm (*Codonopsis javanica*) là một loài thuộc chi *Codonopsis*, phân bố tự nhiên ở một số vùng cao trên 800 m của ở khu vực Tây Nguyên nước ta, Việt Nam và đã được biết đến với nhiều tác dụng có lợi cho sức khỏe con người. Trong nghiên cứu này, tối ưu hóa các thông số như nhiệt độ, thời gian, tỉ lệ nước/nguyên liệu để thu Inulin, Fructan và tổng chất chiết hòa tan trong rễ Đàng sâm (*Codonopsis javanica*) có sự hỗ trợ của sóng siêu âm bằng phương pháp mặt đáp ứng RSM (Response Surface Methodology) với mô hình Box Behnken đã được nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy điều kiện tối ưu ở nhiệt độ 71°C, thời gian chiết 36 phút, tỉ lệ nước/nguyên liệu 47ml/g. Ở các điều kiện chiết tối ưu này, hàm lượng Inulin, fructan và tổng chất rắn hòa tan tối đa thu được tương ứng là  $239,29 \pm 3,78$ ;  $269,59 \pm 1,99$  mg/g và  $61,35 \pm 1,95$  g/100 g.

**Từ khóa:** Box- Behnken, Đàng sâm (*Codonopsis javanica*), Inulin, Fructan, siêu âm, tối ưu hóa.

## 1. GIỚI THIỆU

*Codonopsis javanica* là một loài cây thuốc thuộc chi *Codonopsis* trong họ hoa chuông (Campanulaceae). Rễ của *C. javanica* được sử dụng làm dược liệu như đề cập trong Dược điển Việt Nam với tên gọi Radix Codonopsis [1, 8] và được sử dụng làm thuốc bổ, có thể thay thế cho nhân sâm (Panax ginseng C. A. Mey) [1, 8, 21]. Các polysaccharite trong Đàng sâm có tác dụng phòng ngừa và điều trị bệnh ung thư, tăng cường miễn dịch [10, 22, 23], cải thiện sự tạo máu bù của lá lách, chống mệt mỏi [4]; tăng cường sự phát triển và hoạt động của *Lactobacilli*, *Bifidobacterium*, chống béo phì và điều trị béo phì [7]. Chiết xuất của *C. javanica* chống lại muỗi hổ (*Aedes albopictus*) trưởng thành [12], giảm béo phì mãn tính do fructose gây ra, tăng insulin máu [6]. Thêm vào đó, phần rễ củ của *C. javanica* được dùng làm rau như thực phẩm thông thường, làm gia vị, làm trà thảo dược. Tuy nhiên, hiện ở Việt Nam chưa có một công trình nào công bố về tách chiết, đánh giá các chất polysaccharite cụ thể là inulin, fructan có hoạt tính sinh học từ cây Đàng sâm làm cơ sở khoa học cho việc sản xuất trà hòa tan, sản xuất các sản phẩm thực phẩm chức năng từ Đàng sâm.

Phương pháp mặt đáp ứng RSM (Response Surface Methodology) có ứng dụng quan trọng trong thiết kế, phát triển và xây dựng các sản phẩm mới cũng như trong việc cải tiến thiết kế sản phẩm hiện có. Thiết kế Box-Behnken (BBD) là một trong những thiết kế phổ biến nhất liên quan đến RSM và đặc biệt có sẵn cho 3 đến 21 yếu tố. Những thiết kế bề mặt đáp ứng được thực hiện đặc biệt để yêu cầu chỉ có 3 cấp độ, được mã hóa là 1, 0 và +1, cách này tạo ra thiết kế với các thuộc tính thống kê mong muốn nhưng quan trọng nhất là chi cần thực hiện với một phần nhỏ các thí nghiệm cần thiết, bởi vì chỉ có ba cấp độ nên mô hình bậc hai là phù hợp. Thiết kế BBD có khả năng dự đoán chính xác tốt hơn ở trung tâm của không gian các yếu tố [13].

Mục đích của nghiên cứu là tối ưu hóa các thông số nhiệt độ, thời gian và tỉ lệ nước/nguyên liệu trong quá trình chiết xuất các chất inulin, fructan và tổng chất chiết hòa tan trong rễ Đàng sâm có sự hỗ trợ của sóng siêu âm bằng phương pháp mặt đáp ứng với mô hình BBD.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Rễ củ Đàng sâm tự nhiên 3 năm tuổi, được thu hái tại Lạc Dương, Lâm Đồng vào tháng 6, 7, 8 năm 2019. Sau khi rửa sạch, mẫu tươi được sấy ở nhiệt độ

<sup>1</sup> Trường Đại học Đà Lạt

đười 55°C đến khi ẩm độ <10% [1]. Mẫu rễ khô được loại beo bằng n-hexan trong 6 giờ [2], tiếp tục sấy khô sau đó được chiết hồi lưu bằng EtOH 90% trong 15 phút [24]. Thu bã, sấy khô, đóng gói mẫu trong túi PE hút chân không và bảo quản đến khi sử dụng chiết xuất các chất.

## 2.2. Phương pháp phân tích

Cân 1 g mẫu khô, thêm nước ở các thể tích khác nhau, chiết xuất bằng siêu âm ở các mức nhiệt độ, thời gian khác nhau. Lọc thô bằng giấy lọc có hỗ trợ của máy lọc chân không. Lọc tinh bằng màng lọc PTFE 0,45 nm. Thêm EtOH 99,7% vào dịch lọc tinh để được dung dịch kết tủa 90% EtOH và 80% EtOH. Để lạnh 4°C trong 12 giờ. Ly tâm lạnh 13000 vòng/16 phút, thu tủa, sấy khô kết tủa ở nhiệt độ 50°C. Kết tủa được hòa tan trong 2 ml nước cất và được dùng cho những phân tích tiếp theo.

Định lượng Fructan/Inulin (mg/g) theo phương pháp của Pencheva và es (2012) [15]. Fructose được dùng làm chất chuẩn, ở nồng độ từ 25-225 ppm. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 483 nm (Photo Lab UV-VIS 71000. Đức); Phương trình tổng quát  $y = ax+b$  ( $R^2 > 0,997$ ).

Hút 0,5 ml mẫu, thêm nước vừa đủ 1 ml. Thêm 0,5 ml hỗn hợp dung dịch hiện màu (200 mg resorcinol, 50 mg thiure, 20 ml axit axetic) và thêm 3,5 ml axit chlorhydric (HCl 30%) vào ống nghiệm có nắp vặn. Ủ cách thủy ở 80°C trong 10 phút, sau đó làm nguội trong bể nước lạnh. Đo độ hấp thụ của hỗn hợp ở bước sóng 483 nm trong vòng 30 phút. Hàm lượng Fructan/inulin được tính toán dựa vào công thức sau:

$$F = \frac{x \cdot k \cdot V}{m}$$

Trong đó: F (mg/g): Hàm lượng Fructan/ inulin trong mẫu phân tích; x: Nồng độ fructose trong mẫu phân tích; k: Hệ số pha loãng; V: Thể tích dịch chiết mẫu; m: là khối lượng mẫu phân tích (g).

Tổng chất rắn hòa tan được xác định bằng phương pháp cân khối lượng theo WHO (1992). Cân chính xác 1,0 g mẫu khô, thêm nước ở các thể tích khác nhau ở các tổ hợp được thiết kế. Cân khối lượng (a). Siêu âm ở các ngưỡng thời gian và nhiệt độ khác nhau theo thiết kế BBD. Lọc, thu dịch chiết và loại bã. Bù nước cho đủ khối lượng (a). Lấy 25 ml dịch chiết vào đĩa petri đã cân khối lượng. Sấy mẫu trong

tủ sấy ở 105°C trong 3 giờ. Cân và ghi lại khối lượng. Tổng chất rắn hòa tan (mg/g) được tính dựa trên công thức:

$$T = \left| (m_1 - m_2) \cdot \frac{V}{v} \right| \times \frac{1}{m}$$

Trong đó: T: Tổng chất rắn hòa tan (mg/g); m: khối lượng mẫu đem chiết (g);  $m_1$ : khối lượng đĩa petri (g);  $m_2$ : khối lượng đĩa petri và mẫu sau khi sấy khô (g); V: thể tích chiết (ml); v: thể tích sấy khô (ml).

## 2.3. Thiết kế tối ưu hóa

Sau khi xác định phạm vi ban đầu của các biến thông qua thử nghiệm một yếu tố, thiết kế BBD được thực hiện để tối ưu hóa. Thời gian chiết ( $X_1$ ), nhiệt độ ( $X_2$ ), tỷ lệ nước với nguyên liệu thô ( $X_3$ ) là các biến độc lập được chọn để tối ưu hóa cho việc chiết xuất Inulin, fructan và tổng chất chiết hòa tan. Phạm vi các biến độc lập và mức độ của chúng được trình bày trong bảng 1. Năng suất chiết (Yi) là đáp ứng của sự kết hợp của các biến độc lập. Thử nghiệm được chọn ngẫu nhiên để giảm thiểu ảnh hưởng của sự biến đổi bất ngờ.

**Bảng 1. Các biến độc lập đầu vào và mức độ được sử dụng trong thiết kế bề mặt đáp ứng**

Biến độc lập đầu vào	Mức biến mã		
	-1	0	1
Nhiệt độ ( $X_2$ ) (°C)	60	70	80
Thời gian ( $X_1$ ) (phút)	15	35	55
Tỉ lệ NL/DM (g/ml) ( $X_3$ )	20	40	60

Mối tương quan giữa các giá trị mã hóa và giá trị thực (Yi) được biểu diễn ở phương trình sau:

$$X_i = \frac{(X_i - X_0)}{\Delta X}$$

Trong đó: X là biến mã;  $X_i$  là mã thực;  $X_0$  là biến tại thí nghiệm trung tâm và  $\Delta X$  là hiệu số giữa giá trị tuyệt đối cực đại của biến thực và giá trị  $X_0$ .

Quy trình hồi quy phi tuyến tính có dạng bậc 2 như sau:  $Y_i = f(x_i)$

$$f(x) = \beta_0 - \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i - \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \beta_{ij} X_i X_j - \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 - \epsilon$$

Trong đó  $Y_i$  là biến phụ thuộc;  $\beta_0$  là hệ số tự do;  $\beta_i$ ,  $\beta_{ij}$  và  $\beta_{ii}$  là các hệ số ước tính theo mô hình, chứng đại diện cho tương tuyến tính, bậc hai và các

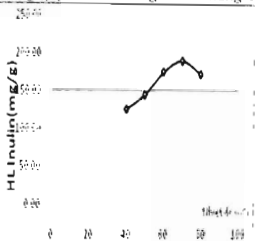
hiệu ứng chéo của các yếu tố  $X_1$ ,  $X_2$  và  $X_3$  trên đáp ứng tương ứng.  $X_4$ ,  $X_5$  là cấp của các biến độc lập.  $\epsilon$  là sai số.

Yêu cầu các hàm mục tiêu (HMT).  $Y_1$ : Hàm lượng Inulin (mg/g): max

$Y_2$ : Hàm lượng Fructan (mg/g): max;  $Y_3$ : Hàm lượng tổng chất rắn hòa tan (TCRHT): max.

Mô hình thống kê chỉ có ý nghĩa và được sử dụng sau khi thỏa mãn các tiêu chuẩn thống kê.

Phân tích thiết kế thử nghiệm và tính toán dữ liệu dự đoán được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm Expert Design (10.0) để ước tính phản ứng của các biến độc lập. Quy hoạch thực nghiệm đưa ra bảng ma trận gồm 17 nghiệm thực và 3 hàm mục tiêu ( $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$ ). Phân tích các yếu tố ảnh hưởng bằng cách sử dụng quy hoạch trực giao đối xứng có tâm.



Hình 1. Sự biến thiên Inulin theo nhiệt độ chiết

Thời gian cũng là một trong những yếu tố góp phần ảnh hưởng đến năng suất chiết. Dải thời gian được khảo sát từ 5, 15, 35, 45, 55 và 65 phút trong khi thể tích được cài đặt ở 50 ml, nhiệt độ 70°C. Hình 2 cho thấy năng suất chiết tăng lên khi thời gian tăng và đạt cao nhất ở 35 phút, sau đó giảm nhẹ nếu tiếp tục tăng thời gian.

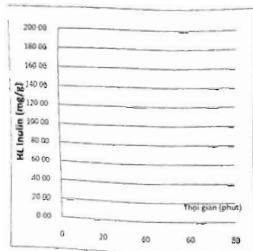
mỗi yếu tố tiến hành tại 3 mức (-1, 0, +1). Thử nghiệm được lặp lại 3 lần đối với mỗi đơn vị nghiệm thực.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến năng suất chiết Inulin

Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến năng suất chiết của Inulin từ *C. javanica* đã được hiển thị trong hình 1. Đầu tiên, để trích xuất, nhiệt độ được đặt ở mức 40, 50, 60, 70°C trong khi các thông số khác được cố định như sau: Thể tích nước 50 ml; thời gian 45 phút. Có thể thấy rằng năng suất chiết tăng khi nhiệt độ chiết xuất tăng từ 40 đến 70°C, đạt cực đại ở 70°C và sau đó không còn tăng khi nhiệt độ chiết xuất tăng.

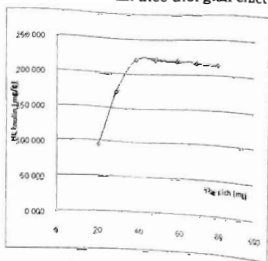
#### 3.2. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến năng suất chiết Inulin



Hình 2. Sự biến thiên Inulin theo thời gian chiết

#### 3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi - nguyên liệu

Tỷ lệ khác nhau của nước với nguyên liệu có thể ảnh hưởng đáng kể đến năng suất chiết. Lượng nước này sẽ không thể chiết hoàn toàn Inulin trong nguyên liệu; nếu quá lớn sẽ gây lãng phí và tốn thêm thời gian khi cô đặc. Tỷ lệ nước/nguyên bột được thiết lập ở mức 20, 30, 40, 50, 60, 70 mL/g. Hình 3 cho thấy khi gia tăng thể tích đến 40-50 mL thì hàm lượng Inulin tăng đến đỉnh, sau đó không tăng mà có khuynh hướng hơi giảm.



Hình 3. Sự biến thiên Inulin theo thể tích dung môi chiết

#### 3.4. Phân tích thống kê và lựa chọn mô hình phù hợp

Bảng 2. Thiết kế BBD và kết quả hàm mục tiêu

Run	X <sub>1</sub> (°C)	X <sub>2</sub> (phút)	X <sub>3</sub> (ml/g)	Y <sub>1</sub> (mg/g)		Y <sub>2</sub> (mg/g)		Y <sub>3</sub> (g/100g)	
				Thực nghiệm	Ước đoán	Thực nghiệm	Ước đoán	Thực nghiệm	Ước đoán
1	0	0	0	234,36	234,87	269,73	267,42	56,74	57,46
2	0	-1	1	184,22	184,73	197,17	197,82	48,92	50,02
3	0	0	0	234,15	234,87	269,83	267,42	57,50	57,46
4	-1	0	1	156,80	156,74	182,48	184,54	46,78	45,67
5	1	0	1	137,24	136,93	147,93	146,03	57,01	56,70
6	0	0	0	235,67	234,87	267,73	267,42	56,80	57,46
7	0	-1	-1	114,63	114,78	122,79	123,60	32,92	32,60
8	0	1	1	188,45	188,30	205,96	205,15	47,13	47,45
9	0	0	0	236,78	234,87	266,99	267,42	57,69	57,46
10	0	0	0	233,41	234,87	262,80	267,42	58,58	57,46
11	-1	0	-1	87,89	88,20	106,21	108,11	38,43	38,75
12	-1	1	0	118,15	118,35	146,99	145,75	41,37	42,16
13	0	1	-1	147,63	147,12	165,95	165,30	45,13	44,03
14	1	0	-1	94,28	94,34	110,44	108,38	41,67	42,78
15	1	1	0	107,85	108,30	103,85	106,56	54,82	54,82
16	-1	-1	0	97,64	97,18	103,88	101,17	42,86	42,86
17	1	-1	0	93,76	93,56	100,88	102,12	46,05	45,26

Dựa trên các thông số được tính toán, mối tương quan giữa các hàm mục tiêu, phân tích giá trị hồi qui của các dữ liệu thực nghiệm. RSM đưa ra kết quả phân tích ANOVA và phương trình hồi qui bậc hai như sau:

### 3.4.1. Hàm lượng Inulin

Bảng 2 cho thấy quá trình tổ hợp các biến độc lập và dữ liệu thực nghiệm so với kết quả dự đoán. Hàm lượng Inulin dao động từ 87,89 đến 236,78 mg/g, độ lệch chuẩn SD (Std) 1.10. Hệ số hồi qui của phương trình Y<sub>1</sub> (R<sup>2</sup> 0,999) chỉ ra rằng chỉ có 0,01% tổng số biến thể không được mô hình giải thích. Giá trị của hệ số hồi qui điều chỉnh (Adj-R<sup>2</sup>) 0,999 xác nhận rằng mô hình này rất có ý nghĩa (p<0,01). Đồng thời, giá trị rất thấp 0,69% của hệ số biến thể CV rõ ràng cho thấy mức độ chính xác và độ tin cậy của các giá trị thí nghiệm rất cao. Mô hình đủ để dự đoán trong phạm vi các biến thử nghiệm.

$$Y_1 = 234,87 - 3,42X_1 + 8,98X_2 + 27,78X_3 - 1,61 X_1X_2 - 6,49X_1X_3 - 7,19X_2X_3 - 85,10X_1^2 - 45,42X_2^2 - 30,72X_3^2 \quad (1)$$

### 3.4.2. Hàm lượng Fructan

Hàm lượng Fructan dao động từ 100,85 đến 269,73 mg/g, trung bình 178,33 mg/g, giá trị SD 3,13

$$Y_3 = 57,46 + 3,76X_1 + 2,21X_2 + 5,21X_3 + 2,56X_1X_2 + 1,75X_1X_3 - 3,50X_2X_3 - 4,37X_1^2 - 6,82X_2^2 - 7,12X_3^2 \quad (3)$$

và CV 1,75%. Hệ số hồi qui của phương trình Y<sub>2</sub> có R<sup>2</sup> 0,999, giá trị hệ số hồi qui điều chỉnh (Adj- square) 0,997; xác nhận rằng mô hình này rất có ý nghĩa (p<0,01), chỉ có 0,01% tổng số biến thể không được mô hình giải thích. Dữ liệu phân tích cũng chỉ ra hàm lượng Fructan chiết được tuân theo mô hình bậc 2, phụ thuộc rất mạnh vào các yếu tố của quá trình chiết với xác suất (p < 0,01) và sự tương quan giữa các biến trong hàm mục có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê (p < 0,05) (Bảng 3).

$$Y_2 = 267,42 - 0,56X_1 + 12,25X_2 + 28,52X_3 - 10,04X_1X_2 - 9,70X_1X_3 - 8,59X_2X_3 - 94,86 X_1^2 - 58,66X_2^2 - 35,79X_3^2 \quad (2)$$

### 3.4.3. Hàm lượng tổng chất rắn hòa tan

Tổng chất rắn hòa tan từ 32,60 đến 57,46 g/100 g có SD 1,12; CV 2,30%. Phương trình Y<sub>2</sub> có R<sup>2</sup> 0,991, giá trị của hệ số hồi qui điều chỉnh (Adj-R<sup>2</sup>) 0,980. Điều này chứng minh rằng mô hình dự đoán phù hợp với thực nghiệm (p<0,01) và sự tương quan rất mạnh giữa các biến độc lập của quá trình chiết (nhiệt độ, thời gian chiết, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu) với xác suất p<0,05. Kết quả này chứng tỏ mức độ phân tán dữ liệu tập trung quanh đường chuẩn của các chất chiết được là rất cao.

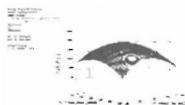
Các giá trị P-values được sử dụng như một công cụ để kiểm tra tầm quan trọng của từng hệ số tương quan, từ đó có thể chỉ ra sự tương tác giữa các biến trong mô hình. Giá trị P-values càng nhỏ hệ số tương ứng càng có ý nghĩa. Kết quả bảng 3 cho thấy hàm lượng Inulin, fructan và tổng chất rắn hòa tan trong dịch chiết biến đổi theo mô hình bậc 2 và có sự tương tác mạnh giữa các thông số của quá trình chiết (nhiệt độ, thời gian chiết, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu). Các hệ số tuyến tính ( $X_1, X_2, X_3$ ), hệ số bậc hai ( $X_1^2, X_2^2, X_3^2$ ) có ý nghĩa với giá trị p rất nhỏ ( $p < 0.05$ ).

Như vậy mô hình bậc 2 hoàn toàn phù hợp với lý thuyết và thực nghiệm với p-value < 0.0001 < 0.05

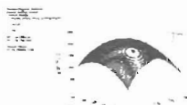
(Bảng 3). Các hệ số của mô hình cũng có  $p < 0.05$  nên chúng hoàn toàn có ý nghĩa về mặt thống kê và phù hợp với mô hình.

Mô hình hóa dưới dạng bề mặt 3D có bề mặt tương tác giữa các yếu tố nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đối với các hàm mục tiêu của quá trình chiết  $Y_1, Y_2, Y_3$  thể hiện ở dạng bản đồ với đỉnh cực đại nằm trong miền nghiên cứu các yếu tố tác động.

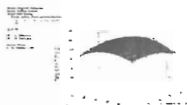
Thông qua mô hình 3D của 3 bề mặt đáp ứng cho thấy rằng có sự khác biệt rất nhiều giữa điểm tối ưu với các điểm khác trên mô hình nghiên cứu.



Hình 4A



Hình 4B



Hình 4C

Hình 4. Mô hình 3D tiên đoán điểm tối ưu của 3 hàm mục tiêu dưới tác động của các yếu tố đầu vào

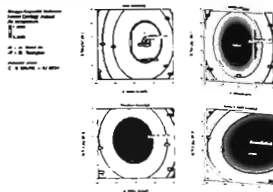
Bảng 3. Mật độ xác suất của các hàm mục tiêu

Mô hình	Hàm lượng Inulin (mg/g)		Hàm lượng fructan (mg/g)		Tổng chất rắn Hòa tan (g/100 g)	
	F	P	F	P	F	P
	5009,12	< 0,0001	827,97	< 0,0001	88,50	< 0,0001
A	77,44	< 0,0001	74,77	< 0,0001	90,16	< 0,0001
B	534,37	< 0,0001	122,91	< 0,0001	31,36	0,0008
C	5116,70	< 0,0001	665,78	< 0,0001	172,85	< 0,0001
AB	8,54	0,0223	41,22	0,0004	20,94	0,0025
AC	139,41	< 0,0001	38,47	0,0004	9,72	0,0159
BC	171,42	< 0,0001	30,22	0,0009	38,98	0,0054
A <sup>2</sup>	25264,66	< 0,0001	3876,79	< 0,0001	63,96	< 0,0001
B <sup>2</sup>	7197,60	< 0,0001	1482,34	< 0,0001	155,68	< 0,0001
C <sup>2</sup>	3291,30	< 0,0001	551,92	< 0,0001	169,81	< 0,0001

Không có yếu tố có điểm tối ưu ở điểm biên nghiên cứu. Đối với 3 bề mặt đáp ứng và các yếu tố như nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đều có xu hướng đạt được điểm tối ưu ở gần điểm trung tâm. Hình 4 (A, B, C).

### 3.5. Phân tích tối ưu và trùng lặp bề mặt đáp ứng các hàm mục tiêu

Khi phân tích và tiến hành trùng lặp 3 bề mặt đáp ứng cho thấy mô hình đưa ra sự chọn lựa thích hợp nhất về các thông số tối ưu. Bảng 4 cho thấy giá trị ước đoán 97,7% và một lựa chọn thích hợp nhất.



Hình 5. Mô hình 2D tiên đoán điểm tối ưu của 3 hàm mục tiêu dưới tác động của các yếu tố đầu vào

Bảng 4. Kết quả dự đoán các thông số tối ưu

STT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Tỷ lệ DM/NL (mL/g)	HL Inulin (mg/g)	HL Fructan (mg/g)	Tổng CRHT (g/100 g)	Xác suất
1	71,34	36,23	47,30	238,81	269,83	58,99	0,977
2	71,35	36,12	47,37	238,82	269,83	58,99	0,977
3	71,34	36,27	47,14	238,78	269,83	58,99	0,977

Khi tiến hành trùng lặp bề mặt đáp ứng các hàm mục tiêu, hình 6 cho biết hàm lượng Inulin tối ưu của dịch chiết được dự đoán là 240,207 mg và dao động trong khoảng 237,85 đến 242,559; hàm lượng Fructan của dịch chiết *C. javanica* tối ưu tương ứng 269,835 mg/g và dao động trong khoảng 263,278-276,39 mg/g khô; hàm lượng chất rắn hòa tan tối ưu 58,99 g/100 g và dao động trong khoảng 56,67- 61,31 g/100 g. Thông số tối ưu của công đoạn chiết được dự đoán ở nhiệt độ 71,36°C, thời gian chiết 36,25 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 47,30 mL/g (Hình 6). Thúc nghiệm tại các điểm tối ưu cho thấy hàm lượng Inulin, Fructan và tổng chất rắn hòa tan cho kết quả thực nghiệm hoàn toàn phù hợp với những phân tích dự báo bằng phần mềm DE 10.0.

nguyên liệu khác inulin được coi là giàu inulin, hàm lượng inulin trong rễ củ Đàng sâm cao hơn. Hàm lượng Inulin trong tỏi (*Allium sativum*) là 9,0-16,0 g/100 g; củ hành tây (*Allium cepa*) là 1,1-7,5 g/100 g; Măng tây (*Asparagus officinalis*) là 2,0-3,0 g/100 g. Tuy nhiên, hàm lượng inulin trong rễ củ Đàng sâm thấp hơn so với inulin trong rễ củ Đàng xoắn (*Cichorium intybus*) là 35,7-47,6 g/100 g [14]. Từ các phân tích ở trên cho thấy điều kiện tối ưu để chiết Inulin, Fructan và tổng chất rắn hòa tan từ Đàng sâm (*C. javanica*) khô ở nhiệt độ 71°C, thời gian chiết 36 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 47 mL/g.

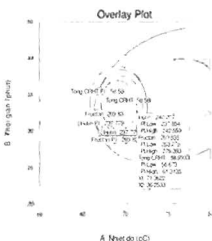
4. KẾT LUẬN

Đàng sâm là nguồn nguyên liệu tiềm năng cung cấp Insulin và fructan để sản xuất thực phẩm chức năng bảo vệ sức khỏe. Điều kiện tối ưu để chiết xuất Inulin, Fructan và tổng chất rắn hòa tan từ dược liệu rễ củ đàng sâm (*C. javanica*) khô là: 71°C, thời gian chiết 36 phút và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 47 ml/g. Với điều kiện tối ưu này, hàm lượng Inulin đạt là 239,29 ± 3,78 mg/g; Fructan là 269,59 ± 1,99 mg/g và tổng chất rắn hòa tan là 61,35 ± 1,95 g/100 g từ dược liệu rễ củ Đàng sâm 3 năm tuổi thu hái tại Lạc Dương, Lâm Đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2017). Dược điển Việt Nam V. NXB Y học, Hà Nội, 1043.
- AOAC (1990). n- hexan remove lipid, 15, ed, Vol. 1.
- Barclay Thomas, Gmic-Markovic Milena, Cooper Peter và Petrovsky Nikolai (2016). Inulin- versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. Journal of Excipients and Food Chemicals. 1(3). tr. 1132.
- Cai Lin Min, Luo Lin và Zeng Yu Hua (2014). Effects of polysaccharides from the root of *Codonopsis pilosula* (Dangshen) on physical fatigue

Hình 6. Kết quả trùng lặp các mặt đáp ứng



Kết quả thực nghiệm tại điểm tối ưu chỉ ra hàm lượng Inulin, Fructan và tổng chất rắn hòa tan của dịch chiết đạt tương ứng là 239,29 ± 3,78 g/100 g; 269,59±1,99 mg/g và 61,35 ±1,95 g/100 g. Nhiều nghiên cứu chiết rút các chất polysaccharide ở thảo dược trước đây đã chỉ ra rằng nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu có ảnh hưởng lớn tới hàm lượng của dịch chiết thu được. Mỗi nguồn nguyên liệu khác nhau thì nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu chiết khác nhau. Cụ thể, thời gian chiết các polysaccharide trong *Codonopsis pilosula* là 44 phút, tỉ lệ nước/nguyên liệu là 56 ml/g và năng lượng cho siêu âm là 320W [24]. So sánh với một số

- induced by forced swimming. *Applied Mechanics and Materials*, Trans Tech Publ, tr. 1591-1594.
5. Chang Raymond (2002). Bioactive polysaccharides from traditional Chinese medicine herbs as anticancer adjuvants. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*. 8(5), tr. 559-565.
  6. Choi Hye-Kyung, Won Eun-Kyung, Jang Young Pyo và Choun, Se-Young (2013). Antiobesity effect of *Codonopsis lanceolata* in high-calorie/high-fat-diet-induced obese rats.
  7. De Guzman CC và Siemonsma JS (1999). *Plant resources of South-East Asia*. Vol. 13, Backhuys Publ.
  8. Flamm Gary, Glinsmann Walter, Kritchevsky David, Prosky Leon và Roberfroid Marcel (2001). Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber: A Review of the Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 41(5), tr. 353-362.
  9. Fu Yu Ping, Feng Bin, Zhu Zhong-Kai, Feng Xin, Chen Shu-Fan, Li Li-Xia, Yin Zhong-Qiong, Huang Chao, Chen Xing-Fu và Zhang Bing-Zhao (2018). The Polysaccharides from *Codonopsis pilosula* Modulates the Immunity and Intestinal Microbiota of Cyclophosphamide-Treated Immunosuppressed Mice. 23(7), pp. 1801
  10. Kelly Greg (2009). Inulin-type prebiotics: a review (Part 2). *Alternative medicine review: A journal of clinical therapeutic*. 14(1), pp. 36-55.
  11. Macchioni Fabio, Carugini Silvia, Cecchi Francesca, Siciliano Tiziana, Braca Alessandra Cioni, Pierluigi và Morelli Ivano (2004). Aqueous extract of *Codonopsis javanica* against larval and pupal stages of *Aedes albopictus*. 57, pp. 215-220.
  12. Moser Matthias, Sentko Anke và Alexiou Hélène (2015). Inulin and health benefits. *Bioactivity biotechnology*, pp. 675-715.
  13. Pencheva D, Petkova N và Denev P (2012). Determination of inulin in dough products. *Scientific works of UFT*. 59, pp. 339-344.
  14. Petkova Nadezhda và Denev Panteley (2013). Evaluation of fructan contents in the taproots of plants *Lactuca serriola* L. and *Sonchus oleraceus* L. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*. 17, pp. 117-122.
  15. Petroski N (2017). Advax Adjuvant: A Potent and Safe Immunopotentiator Composed of Delta Inulin. *Immunopotentiators in Modern Vaccines*. Elsevier, pp. 199-210.
  16. Roberfroid, Marcel B. (2004). Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. *Book*, pp. 392.
  17. Shoaib Muhammad, Shehzad Amir, Omar Mukama, Rakha Allah, Raza Husnan, Sharif Hafiz Rizwan, Shakeel Azam, Ansari Anum và Niazi Sobia (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate polymers* 147, pp. 444-454.
  18. 'Tungland BC (2000). Inulin: A comprehensive scientific review", Duncan Crow Wholistic Consultan, pp. 1-83.
  19. WHO Western Pacific Region (1990). *Medicinal plants in Viet nam*, Ha Noi.
  20. Yongxu Sun và Jicheng Liu (2008). Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the roots of *Codonopsis pilosula* and its immunity activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 43(3), pp. 279-282.
  21. Zhao Xiaona, Hu Yuanliang, Wang Deyun, Liu Jianzhu và Guo Liwei J (2013). The comparison of immune-enhancing activity of sulfated polysaccharides from *Tremella* and *Codonopsis pilosula*. *Carbohydrate polymers*. 98(1), pp. 438-443.
  22. Zou Yuanfeng, Chen Xingfu, Yang Wenyu và Liu Sha (2011). Response surface methodology for optimization of the ultrasonic extraction of polysaccharides from *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* LT Shen. *Carbohydrate Polymers*. 84(1), pp. 503-508.
  23. Li Jiankuan, Zhang Xin, Cao Lingya, Ji Jiaojiao và Gao Jianping (2018) Three Inulin-Type Fructans from *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. Roots and Their Prebiotic Activity on *Bifidobacterium longum*. *Molecules*. 23(12), pp. 3123.
  24. Lim Tong Kwee (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants*. Vol. 1, Springer.

OPTIMIZING INULIN, FRUCTAN, TOTAL SOLUBLE EXTRACTS IN THE DANGHEN ROOT  
(*Codonopsis javanica*) WITH THE SUPPORT OF ULTRASONIC WAVES BY RESPONSE  
SURFACE METHODOLOGY METHOD WITH BOX BEHNKEN DESIGN

Nguyen Thu Thang Long, Nguyen Tri Minh,  
Le Nhu Bich, Truong Dong Phuong

Summary

The Danghen (*Codonopsis javanica*) is a medicinal species of the *Codonopsis* genus, naturally distributed in some highland areas over 800 m in the Central Highlands of Vietnam. It has been known for its beneficial effects on human health. The optimization of parameters such as the temperature, time, water/material ratio to obtain Inulin, Fructan and total soluble extracts in the Danghen root with the support of ultrasonic waves by RSM (Response Surface Methodology) method with Box Behnken model was carried out. Results on study have been showed that optimal temperature at 71°C, time for 36 minutes, water/material ratio was 47 ml/g. The maximum content of Inulin, fructane and total dissolved solids, respectively, were 239.29 ± 3.78; 269.59 ± 1.99 mg/g and 61.35 ± 1.95 g/100 g.

**Keywords:** Box-Behnken Design, Dangshen (*Codonopsis javanica*), Inulin, Fructan, optimization, ultrasound.

Người phản biện: TS. Trần Ngọc Thanh

Ngày nhận bài: 29/11/2019

Ngày thông qua phản biện: 30/12/2019

Ngày duyệt đăng: 6/01/2020