

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY ĐẾN HÀM LƯỢNG FLAVONOIDS TỪ LÁ CHÙM NGÂ Y VÀ ỨNG DỤNG KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CHẤT BÉO CỦA FLAVONOIDS TRONG BẢO QUẢN CÁ THU

● ĐẶNG THỊ NGỌC DUNG* - NGUYỄN NGỌC CHÂU - ĐẶNG THỊ NGỌC HÀ

TÓM TẮT:

Bằng phương pháp thực nghiệm trực giao cấp hai, bài toán tối ưu quá trình trích ly flavonoid từ lá chùm ngây đã được xác lập với tỷ lệ dung môi ethanol: nguyên liệu (30/1 (mL/g)), nhiệt độ trích ly 74,1^oC; thời gian trích ly 3 giờ 16 phút và hàm lượng flavonoid thu được 1,4503%. Bên cạnh đó, flavonoid được sử dụng như chất chống oxy hóa tự nhiên cho chất béo trong quá trình bảo quản cá thu, giá trị TBARS trong thời gian bảo quản cá thu (ngày thứ 3, 5, 7, 9) đã được kiểm chứng trong nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong quá trình bảo quản cá thu với dịch trích flavonoids từ lá chùm ngây nên thực hiện ở nhiệt độ bảo quản thấp (0^oC) và với nồng độ flavonoid càng cao thì khả năng chống oxy hóa chất béo cá thu càng tốt.

Từ khóa: chất chống oxy hóa, flavonoids, chùm ngây.

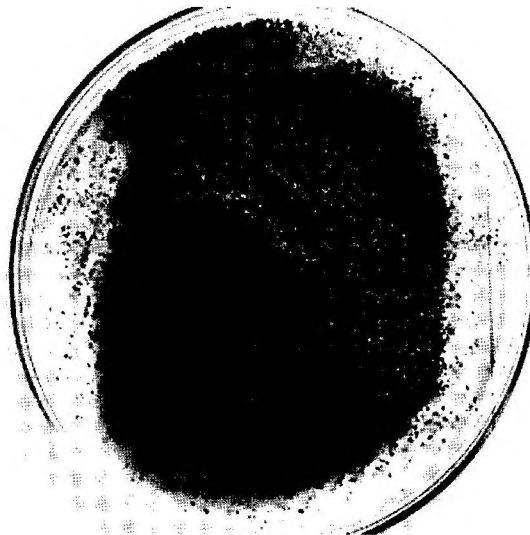
1. Đặt vấn đề

Flavonoids là một nhóm hợp chất tan trong nước, có khoảng 6.000 hợp chất flavonoids tự nhiên có trong thực vật (Harborne et al., 2000). Trong lá chùm ngây (100g khối lượng khô) có chứa 0,179÷1,643% flavonoids, bao gồm quercetin và kaempferol glycosides; đây là những hợp chất chính. Các công trình nghiên cứu cho thấy, flavonoids đem lại nhiều giá trị sinh học như: chống viêm, kháng khuẩn, bảo vệ tim mạch, phòng ngừa và điều trị ung thư, tăng cường khả năng nhận thức của người lớn tuổi. Ngoài ra, chúng còn có khả

năng chống oxy hóa rất hiệu quả, giúp thu nhận gốc tự do (Sandhar 2011).

Flavonoid ngày càng được quan tâm trong lĩnh vực thực phẩm vì có vai trò tạo màu và khả năng chống oxy hóa cao. Từ những hoạt tính sinh học trên, flavonoids được trích ly từ thực vật được sử dụng trong thực phẩm với hai mục đích chính là kháng vi sinh vật và chống oxy hóa nhằm kéo dài thời gian bảo quản cho thực phẩm. Do đó, mục đích chính của nghiên cứu là khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly flavonoids từ lá chùm ngây và ứng dụng cao chiết chùm ngây trong quá trình bảo quản cá thu.

Hình 1. Lá chùm ngây nguyên liệu trước và sau khi xử lý



2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá chùm ngây tươi được thu hái tại xã Tam Phước, huyện Long Điền, tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu. Sau khi thu hái, lá chùm ngây được rửa sạch, loại bỏ cành, các lá úa. Sau đó, đem sấy ở nhiệt độ 45°C trong khoảng 3 giờ. Tiếp tục đem xay nhuyễn bằng máy xay. Sau đó thu được bột chùm ngây và bảo quản trong lọ kín. (Hình 1)

2.2. Trích ly flavonoids

Dung môi ethanol 70% được sử dụng trong quá trình trích ly flavonoids từ lá chùm ngây vì cho hiệu suất trích ly cao (Vongsak et al., 2013). Cân mỗi 1g bột lá chùm ngây cho vào 6 bình tam giác 100mL, lần lượt cho dung môi ethanol 70% (mL) theo tỷ lệ tương ứng là 15, 20, 25, 30, 35 và 40 vào các bình tam giác trên. Sau đó bịt kín các bình tam giác và tiến hành ngâm chiết ở các điều kiện nhiệt độ 40, 50, 60, 70, 80°C trong bể điều nhiệt, thời gian 1, 2, 3 và 4h. Tiếp theo, tiến hành lọc tách bã bằng thiết bị lọc chân không, dịch trích thu được đem xác định hàm lượng flavonoids tổng. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3. Phương pháp xác định hàm lượng flavonoids tổng

Hàm lượng flavonoids tổng được xác định theo phương pháp so màu của Zhishen (Zhishen et al., 1999):

$$F(\%) = 2,51 \frac{a.V.n.10^{-6}}{m} 100 \quad (1)$$

Trong đó:

F: Hàm lượng flavonoids tổng (%); 2,51: Hệ số chuyển đổi từ flavonol sang flavonol glycoside (flavonoids); a: Hàm lượng quercetin (g/mL) được xác định từ phương trình đường chuẩn; V: Tổng thể tích dịch chiết (mL); m: khối lượng mẫu (g); n: hệ số pha loãng.

2.4. Tối ưu quá trình trích ly flavonoids theo phương pháp trực giao cấp 2

Hàm lượng flavonoids chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố trong quá trình trích ly như: dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ, thời gian. Các yếu tố được khảo sát để tìm ra điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm sử dụng trong nghiên cứu là phương pháp quy hoạch trực giao cấp 2 (Nguyễn Cảnh, 2004):

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{j=1}^k b_j x_j + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i x_i + \sum_{j=1}^k b_{jj} x_j^2 \quad (2)$$

3 yếu tố để tiến hành khảo sát gồm: tỷ lệ dung môi - nguyên liệu (Z_1) (mL/g), nhiệt độ trích ly (Z_2) (°C), thời gian trích ly (Z_3) (h). Với hàm mục tiêu là hàm lượng flavonoids tổng (y) (%). Do đó, $k=3$ và số thí nghiệm ở mức cơ sở (hay ở tâm) là $n_0 = 4$. Số thí nghiệm được tiến hành: $N = 2^k + 2k +$

$n_0 = 2^3 + 2.3 + 4 = 18$; Sau đó, mã hóa các biến thực Z_1, Z_2, Z_3 để đưa về các biến ảo x_1, x_2, x_3 theo công thức (2): $x_j = \frac{Z_j - Z_j^0}{\Delta Z_j} \quad j = 1 \div 3 \quad (3)$.

2.5. Phương pháp xác định TBARS

Phân tích TBARS là một trong những phương pháp được sử dụng phổ biến trong việc đánh giá mức độ của quá trình oxy hóa lipid trong thực phẩm. Giá trị TBARS được tính tương đương với hàm lượng malonaldehyde (MDA) - những peroxide béo được tạo ra việc phân hủy các acid béo không bão hòa (Namal Senanayake, 2013). Cách xác định giá trị TBARS theo phương pháp của Robles-Martinez, mg MAD/kg nguyên liệu. Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần. (Robles-Martinez Robles-Martinez et al., 1982).

2.6. Phương pháp xử lý số liệu thực nghiệm

Tất cả các số liệu là giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn của 3 lần thí nghiệm được lặp lại. Các kết quả được xử lý bằng phần mềm phân tích dữ liệu Microsoft Excel 2010 và phần mềm R (version 3.1.1, 32-bit). Ý nghĩa thống kê của các kết quả được thực hiện bằng phương pháp phân tích phương sai ANOVA để đánh giá sự khác nhau với mức ý nghĩa $p < 0.05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng flavonoids tổng từ lá chùm ngây trong quá trình trích ly

3.1.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi và nguyên liệu đến hàm lượng flavonoids tổng (Bảng 1)

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hàm lượng flavonoids tổng

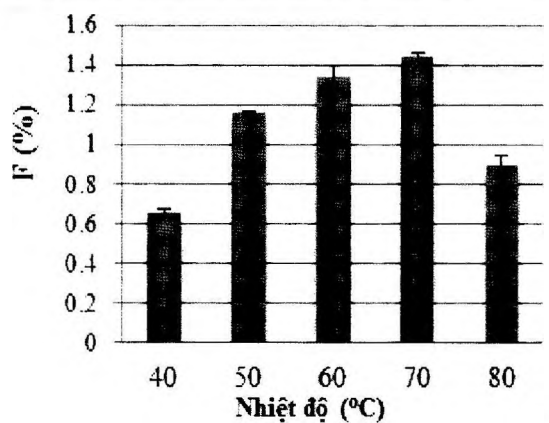
Tỷ lệ (mL/g)	Hàm lượng flavonoids tổng (% g/g)
15	0,336 \pm 0,015a
20	0,650 \pm 0,007b
25	1,306 \pm 0,044c
30	1,395 \pm 0,024d
35	1,417 \pm 0,034d
40	1,398 \pm 0,014d

Theo kết quả thể hiện ở Bảng 1, hàm lượng flavonoids tổng tăng khi tỷ lệ dung môi - nguyên liệu tăng; trong đó, với tỷ lệ dung môi - nguyên liệu là 15/1 (mL/g) thì hàm lượng flavonoids tổng thu được là thấp nhất, đạt 0,336 \pm 0,015%.

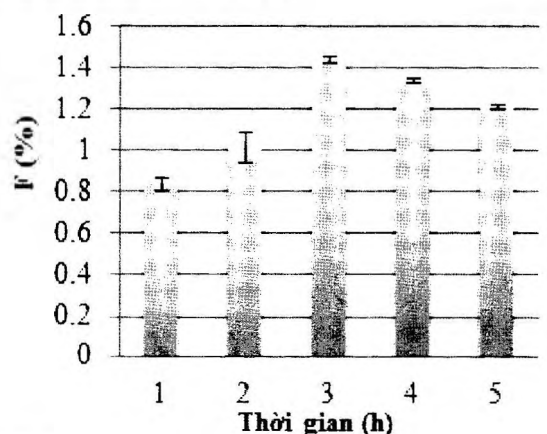
Tuy nhiên, khi tăng lượng dung môi đến một giá trị nào đó, hàm lượng flavonoids tổng hầu như không tăng; cụ thể ở tỷ lệ dung môi - nguyên liệu là 30, 35 và 40 (mL/g) thì hàm lượng flavonoids tổng không có sự khác biệt với mức ý nghĩa 95% (1,395 \pm 0,024, 1,417 \pm 0,034 và 1,398 \pm 0,014(%)). Vì vậy, tỷ lệ dung môi - nguyên liệu = 30/1 được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến hàm lượng flavonoids tổng (Đồ thị 1, Đồ thị 2)

Đồ thị 1. Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng flavonoids tổng



Đồ thị 2. Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng flavonoids tổng



Kết quả số liệu đồ thị 1 và đồ thị 2 cho thấy hàm lượng flavonoids tổng có xu hướng tăng khi nhiệt độ tăng từ 40°C (0,658 ± 0,018(%)) lên 70°C (1,438 ± 0,020(%)). Tuy nhiên, khi nhiệt độ trích ly 80°C, hàm lượng flavonoids tổng lại giảm một cách đáng kể (0,892 ± 0,053(%)). Mặt khác, trong khoảng thời gian trích ly từ 1h đến 3h, hàm lượng flavonoids tổng tăng đáng kể, cao nhất sau 3h (1,438 ± 0,020(%)) và sau đó khi thời gian trích ly tăng (từ 4h lên 5h) thì hàm lượng flavonoids tổng có xu hướng giảm (tương ứng 1,334 ± 0,005(%) và 1,208 ± 0,012(%)). Vì vậy, nhiệt độ trích ly 70°C và thời gian trích ly 3h được sử dụng để khảo sát bài toán tối ưu cho quá trình trích ly.

3.2. Tối ưu hóa quá trình trích ly (Bảng 2)

Bảng 2. Các mức yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly flavonoids tổng từ lá chùm ngây

Các yếu tố ảnh hưởng	-1.414	-1	0	+1	+1.414	ΔZ
	Z _j ^α	Z _j ^{min}	Z _j ^p	Z _j ^{max}	Z _j ^α	ΔZ _j
Z ₁ (mL/g)	22,9	25	30	35	37,1	5
Z ₂ (°C)	45,9	50	60	70	74,1	10
Z ₃ (h)	1,6	2	3	4	4,4	1

Bảng 3. Bảng ma trận quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp 2 cho 3 yếu tố, K=3, n0=4

N	x ₀	x ₁	x ₂	x ₃	x ₁ x ₂	x ₁ x ₃	x ₂ x ₃	x ₁ ² - $\frac{2}{3}$	x ₂ ² - $\frac{2}{3}$	x ₃ ² - $\frac{2}{3}$	y
1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	0,333	0,333	0,333	1,301
2	+1	-1	-1	+1	+1	-1	-1	0,333	0,333	0,333	0,971
3	+1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	0,333	0,333	0,333	1,017
4	+1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	0,333	0,333	0,333	1,255
5	+1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	0,333	0,333	0,333	1,116
6	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	0,333	0,333	0,333	0,987
7	+1	+1	-1	-1	-1	-1	+1	0,333	0,333	0,333	1,005
8	+1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	0,333	0,333	0,333	1,007
9	+1	+1,141	0	0	0	0	0	1,333	-0,667	-0,667	1,321
10	+1	-1,141	0	0	0	0	0	1,333	-0,667	-0,667	1,102

Kết quả xử lý số liệu thực nghiệm, kiểm tra tiêu chuẩn Student, tiêu chuẩn Fisher, mô hình toán cho quy trình trích ly flavonoids từ lá chùm ngây được thể hiện ở phương trình (4):

$$\hat{y} = 1,1776 + 0,096x_2 + 0,0802x_3 - 0,08(x_1^2 - \frac{2}{3}) - 0,1519(x_2^2 - \frac{2}{3}) \quad (4)$$

Áp dụng phần mềm xử lý số liệu SOLVER, hàm lượng flavonoids tổng thu được cao nhất là 1,4515% (điều kiện -1,414 ≤ x₁, x₂, x₃ ≤ 1,414) với x₁ = 0, x₂ = 1,141, x₃ = 0,264. (Bảng 3)

Dựa vào công thức (3), từ các biến ảo x₁, x₂, x₃, tiến hành chuyển về các biến thực thu được kết quả tương ứng là tỷ lệ dung môi-nguyên liệu, Z₁ = 30; nhiệt độ trích ly, Z₂ = 74,1°C; thời gian trích ly, Z₃ = 3 giờ 16 phút.

N	x_0	x_1	x_2	x_3	x_1x_2	x_1x_3	x_2x_3	$x_1^2 - \frac{2}{3}$	$x_2^2 - \frac{2}{3}$	$x_3^2 - \frac{2}{3}$	y
11	+1	0	+1,141	0	0	0	0	-0,667	1,333	-0,667	1,413
12	+1	0	-1,141	0	0	0	0	-0,667	1,333	-0,667	1,097
13	+1	0	0	+1,141	0	0	0	-0,667	-0,667	1,333	1,256
14	+1	0	0	-1,141	0	0	0	-0,667	-0,667	1,333	0,879
15	+1	0	0	0	0	0	0	-0,667	-0,667	-0,667	1,306
16	+1	0	0	0	0	0	0	-0,667	-0,667	-0,667	1,433
17	+1	0	0	0	0	0	0	-0,667	-0,667	-0,667	1,412
18	+1	0	0	0	0	0	0	-0,667	-0,667	-0,667	1,319

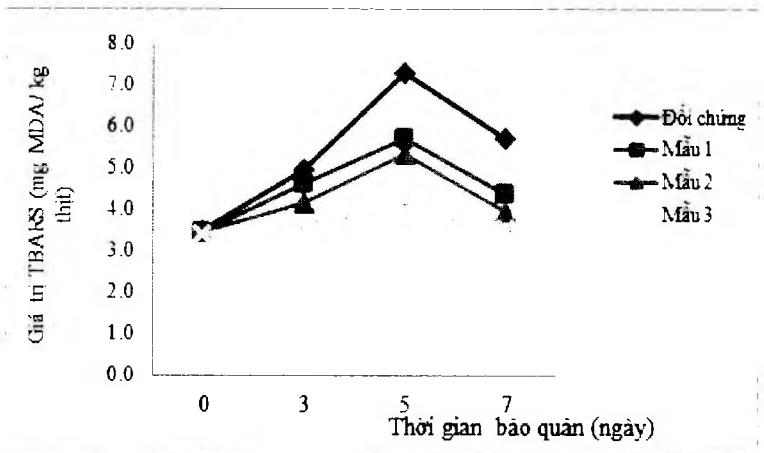
3.3. Kết quả khảo sát khả năng chống oxy hóa của cao chiết lá chùm ngây trong quá trình bảo quản lạnh cá thu

Cá thu sau khi được xử lý bằng dung dịch cao chiết lá chùm ngây và được bảo quản ở nhiệt độ 0°C sẽ được quan sát sự thay đổi màu sắc thể hiện ở Hình 2 và kiểm tra sự thay đổi giá trị TBARS được thể hiện theo đồ thị 3.

Theo Đồ thị 3, giá trị TBARS trong quá trình bảo quản cá thu tăng đáng kể trong 5 ngày bảo quản đầu tiên; đặc biệt mẫu đối chứng, giá trị TBARS tăng rất nhanh từ $3,479 \pm 0,060$ lên $7,298 \pm 0,079$ (mg MDA/kg thịt cá); trong khi đó, ở mẫu 3, giá trị TBARS chỉ tăng từ $3,393 \pm 0,030$ lên $4,052 \pm 0,06$ (mg MDA/kg thịt cá). Tại thời điểm 7 ngày bảo quản, giá trị TBARS lại giảm mạnh, mẫu đối chứng (ĐC) ($5,701 \pm 0,052$), mẫu 3 ($3,531 \pm 0,03$ (mg MDA/kg thịt cá)).

Như vậy, giá trị TBARS tăng là do quá trình oxy hóa chất béo diễn ra mạnh mẽ trong giai đoạn đầu, các sản phẩm của quá trình oxy hóa chất béo như hydroperoxide được hình thành và nhanh chóng bị oxy hóa thành các sản phẩm bậc 2 như aldehyde (Benjakul et al., 2005). Các sản phẩm oxy hóa bậc 2 tiếp tục bị biến đổi thành các sản

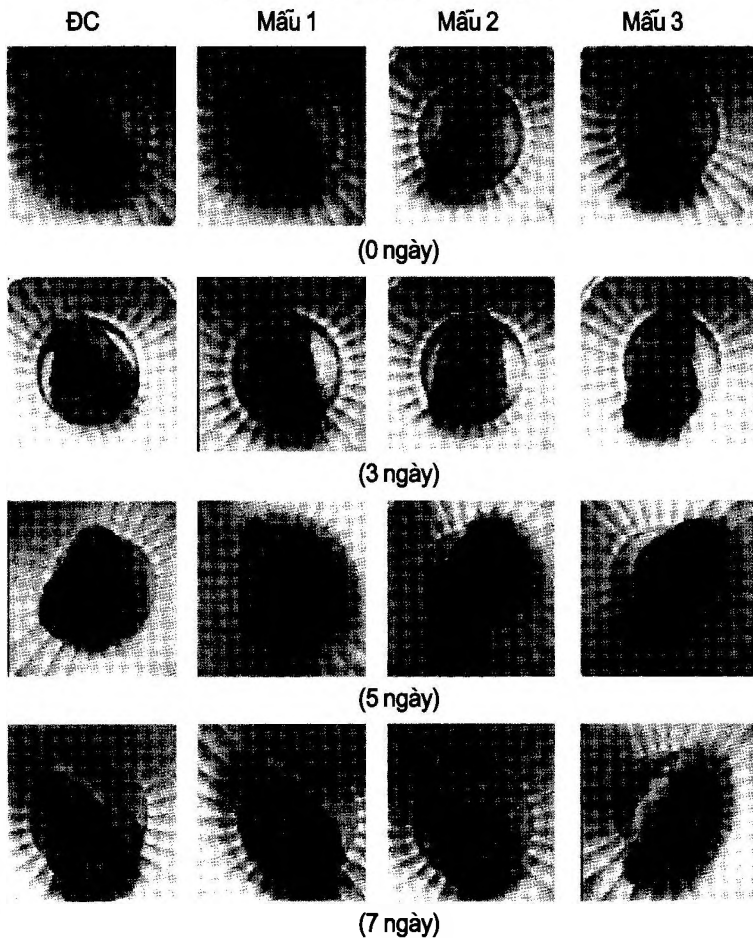
Đồ thị 3. Sự thay đổi giá trị TBARS của cá thu trong quá trình bảo quản lạnh ở 0°C



phẩm khác dưới tác dụng của enzyme và vi sinh vật, dẫn đến giảm hàm lượng của TBARS (Nirmal & Benjakul, 2012).

Bên cạnh đó, thịt cá thu được xử lý bằng dung dịch cao chiết chùm ngây có tác dụng hạn chế sự oxy hóa chất béo đáng kể hơn so với mẫu đối chứng theo Đồ thị 3. Đồng thời, dung dịch xử lý có nồng độ cao chiết càng cao thì khả năng mẫu cá bị oxy hóa càng thấp, cụ thể trong 5 ngày đầu tiên, giá trị TBARS của mẫu đối chứng tăng đáng kể đến 3,819 (mg MDA/kg thịt cá); trong khi đó, giá trị này ở mẫu 1 (0,001g/mL), mẫu 2 (0,002g/mL) tăng tương ứng là 2,256 và 1,875 (mg MDA/kg thịt cá); đặc biệt ở mẫu 3 (0,003g/mL) rất thấp

Hình 2. Sự thay đổi màu sắc của các mẫu cá thu trong quá trình bảo quản lạnh 0°C



0,659 (mg MDA/kg thịt cá). Kết quả này cũng phù hợp với báo cáo của Tang và các cộng sự (2002) khi xử lý thịt gà bằng dịch chiết trà xanh, ở nồng độ 100ppm dịch chiết trà thì giá trị TBARS thấp hơn ở nồng độ 50 ppm (Tang et al., 2001).

4. Kết luận và đề nghị

Bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp 2, đã tối ưu được các thông số của quá trình trích ly flavonoids từ lá chùm ngây: tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 30/1 (mL/g); nhiệt độ trích ly 74,1°C; thời gian trích ly 3 giờ 16 phút. Ở điều kiện này, hàm lượng flavonoids đạt được là cao nhất (1,4503%). Bên cạnh đó, việc sử dụng cao chiết flavonoids từ lá chùm ngây vào bảo quản thịt cá thu ở nhiệt độ 0°C có hiệu quả chống oxy hóa chất béo, giá trị TBARS của mẫu 3 có giá trị thấp nhất (0,659 (mg MDA/kg thịt cá)) so với mẫu đối chứng (3,819 (mg MDA/kg thịt cá)) trong 5 ngày bảo quản ■

Lời cảm ơn:

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn cô Hồ Thị Hà Trang, Khoa Công nghệ hóa học và Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật TP. Hồ Chí Minh về sự hợp tác để hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Nguyễn Cảnh, (2004). *Quy hoạch thực nghiệm*. NXB Đại học Quốc gia TP.Hồ Chí Minh. 109.
2. Benjakul et al., (2005). Antioxidative activity of caramelisation products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince. *Food Chemistry*, 90. 231-239.
3. Nirmal N.P. & Benjakul S., (2012). Effect of Green Tea Extract in Combination with Ascorbic Acid on the Retardation of Melanosis and Quality Changes of Pacific White Shrimp During Iced Storage. *Food and Bioprocess Technology*, 5. 2941-2951.
4. Robles-Martinez C., Cervantes E. & Ke P.J., (1982). Recommended Method For Testing the Objective Rancidity Development in Fish Based on TBARS Formation. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1089.
5. Sandhar H.K., (2011). A review of Phytochemistry and Pharmacology of flavonoids. *International pharmaceutica Scientia*, 1-17.

6. Tang S. et al., (2001). Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. *Journal of Food Chemistry*, 34, 651-657.
7. Vongsak B. et al., (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44, 566-571.
8. Zhishen J., Mengcheng T. & Jianming W., (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

Ngày nhận bài: 6/10/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 28/10/2021

Ngày chấp nhận đăng bài: 14/11/2021

Thông tin tác giả:

1. ĐẶNG THỊ NGỌC DUNG^{1*}

2. NGUYỄN NGỌC CHÂU¹

3. ĐẶNG THỊ NGỌC HÀ²

¹Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật TP. Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Quy Nhơn

**EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS
ON THE FLAVONOIDS CONCENTRATION FROM MORINGA
OLEIFERA LAM AND THE USE OF FLAVONOIDS
ANTIOXIDAN ABILITY IN PRESERVING MACKEREL**

● **DANG THI NGOC DUNG¹**

● **NGUYEN NGOC CHAU¹**

● **DANG THI NGOC HA²**

¹Ho Chi Minh City University of Technology and Education

²Quy Nhon University

ABSTRACT:

By using the second-level intuitive empirical method, the optimal technological mode of flavonoids extracted process was developed. In this process, the ratio of ethanol to raw materials is 30/1 (mL/g), the temperature is 74.1°C, the time is 3 hours 16 minutes and the total content of obtained flavonoids is 1.4503%. Flavonoids are used as natural antioxidant for fats in the preservation of mackerel. The TBARS values during the preservation of mackerel on 3rd day, 5th day, 7th day and 9th day were tested. The study's results show that the preservation of mackerel with extracted flavonoids from moringa leaves should be carried out at a low temperature (0°C) and the higher the concentration of extracted flavonoids is, the higher the antioxidant ability for fats is.

Keywords: antioxidant, flavonoids, *Moringa oleifera* Lam.