

TỐI ƯU HÓA CHIẾT POLYPHENOL TỪ LÁ ỔI BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

Hồ Bá Vương, Nguyễn Xuân Duy*, Nguyễn Anh Tuấn

Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

Email: duy.ntu.edu@gmail.com*

Ngày gửi bài: 30.10.2014

Ngày chấp nhận: 09.10.2015

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hóa điều kiện chiết polyphenol từ lá ổi. Để đạt được mục tiêu này, chúng tôi sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng để tối ưu hóa điều kiện chiết polyphenol. Bốn nhân tố chính ảnh hưởng đến quá trình chiết polyphenol từ lá ổi được nghiên cứu bao gồm: Nhiệt độ, thời gian, tỉ lệ dung môi chiết/nguyên liệu và nồng độ dung môi chiết. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng điều kiện tối ưu chiết polyphenol từ lá ổi đạt được như sau: Nhiệt độ chiết 90°C, thời gian chiết 76,5 phút, tỉ lệ dung môi chiết/nguyên liệu 70/1 (ml/g) và nồng độ dung môi chiết ethanol 44,3%. Tại điều kiện chiết tối ưu, hàm lượng polyphenol thu được 233,76 mg GAE/g chất khô. Dịch chiết polyphenol thu được tại điều kiện tối ưu có hoạt tính chống oxi hóa cao dựa vào khả năng khử gốc tự do DPPH với giá trị IC₅₀ là 2,1 µg/ml. Những kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra tiềm năng sử dụng lá ổi như những nguồn chiết xuất các chất chống oxi hóa tự nhiên.

Từ khóa: Chống oxi hóa, hoạt tính tối ưu hóa, lá ổi, polyphenol, phương pháp bề mặt đáp ứng.

Optimization of Polyphenol Extraction from Guava Leaves by Response Surface Methodology

ABSTRACT

This study was carried out to optimize extraction condition of polyphenols from guava leaf. To obtain this goal, we used a response surface methodology to optimize extracting conditions of polyphenols. Four main factors affecting on polyphenol extraction conditions from guava leaf were investigated, including: Temperature, time, solvent-material ratio, and solvent concentration. Research results showed that the optimal extraction conditions of polyphenols from guava leaf obtained as follow: Temperature of 90°C, time of 76.5 mins, a solvent-material of 70/1 (ml/g), and a ethanol concentration of 44.3%. At optimal extraction conditions, polyphenol content achieved 233.76 mg GAE/g of dry basis. Polyphenol extract from guava leaf obtained at the optimal condition exhibited high antioxidant activity based DPPH free radical scavenging ability with an IC₅₀ value of 2.1 µg/ml. Our research results indicated potential of using guava leaf as promising resources for extracting natural antioxidants.

Keywords: Antioxidant activity, guava leaf, optimization, polyphenol, response surface methodology.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ thực tiễn cuộc sống, con người đã biết tìm ra được nhiều loại thực vật vừa có tác dụng dinh dưỡng, vừa có tác dụng điều trị bệnh tật. Thực vật cũng là một nguồn tuyệt vời chứa các chất chống oxi hóa (Huda-Faujan et al., 2009). Các hợp chất phenolic, là những chất chống oxi hóa tự nhiên, được phát hiện phổ biến trong các

loại thực vật. Chúng đã được báo cáo là có nhiều chức năng sinh học quý bởi vì chúng có khả năng trì hoãn hiệu quả quá trình oxi hóa chất béo và do đó góp phần cải thiện chất lượng và dinh dưỡng của thực phẩm (Marja et al., 1999; Jin and Rusell, 2010). Nhiều nghiên cứu đã chứng minh được các phần của thực vật chứa nhiều chất chống oxi hóa như: Flavonoids, tannins, vitamins, quinines, coumarins, lignan,

lignin và các hợp chất phenolic khác (Cai et al., 2004; Amarowicz et al., 2004). Vì vậy, thực vật sẽ là một nguồn nguyên liệu tốt để thu nhận và ứng dụng các chất có hoạt tính sinh học.

Cây ổi là một trong những cây nhiệt đới được trồng khá phổ biến ở Việt Nam, từ vùng đồng bằng đến vùng núi trung du. Từ trước đến nay, người ta trồng ổi chủ yếu để lấy quả. Tuy nhiên, ngoài sản phẩm chính là quả, lá ổi cũng là một nguồn khá dồi dào và có nhiều tiềm năng sử dụng nhưng chưa được khai thác đúng mức. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng trong lá ổi chứa nhiều hợp chất quý có hoạt tính sinh học như: Hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính ức chế enzyme glucosidase, hoạt tính ức chế tyrosinase (Hui-Yin and Gow-Chin, 2007; Suganya et al., 2007; Rosa et al., 2008; Witayapan et al., 2010; Dong-Hyun et al., 2011; Nguyễn Xuân Duy và Hồ Bá Vương, 2013). Dịch chiết giàu polyphenol từ lá ổi có thể ứng dụng trong việc ngăn ngừa, hạn chế quá trình oxy hóa chất béo trên cơ thịt cá đã được báo cáo bởi nhóm tác giả Nguyen Xuan Duy et al., 2013; Nguyễn Xuân Duy và Nguyễn Anh Tuấn, 2013; Ho Minh Hiep et al., 2013. Việc thu nhận và ứng dụng các chất chống oxy hóa nguồn gốc tự nhiên nhằm thay thế dần các chất chống oxy hóa tổng hợp đang là một hướng nghiên cứu đầy triển vọng. Vì vậy, lá ổi sẽ là một trong những nguồn thực vật hứa hẹn cung cấp các chất chống oxy hóa tự nhiên và mở rộng áp dụng trong một số lĩnh vực như thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm.

Để thu nhận và ứng dụng các chất có hoạt tính sinh học quý từ thực vật, một vấn đề đặt ra đó là làm sao để thiết lập được một quá trình chiết tối ưu. Trong số những phương pháp qui hoạch thực nghiệm hiện đại, phương pháp bề mặt đáp ứng với sự hỗ trợ của các phần mềm xử lý số liệu đã trở thành một công cụ hữu ích giúp các chuyên gia thực hiện nghiên cứu các quá trình tối ưu hóa đa nhân tố, nhằm tiết kiệm thời gian, chi phí (Myers and Montgomery, 2002).

Bài báo này trình bày các kết quả tối ưu hóa điều kiện chiết polyphenol từ lá ổi bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

2.1.1. Lá ổi

Lá ổi được sử dụng trong nghiên cứu thuộc giống ổi xẻ (*Psidium guajava*). Nguyên liệu được thu hái trực tiếp tại vườn trồng của người dân ở thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa trong tháng 4/2014.

2.1.2. Hóa chất

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Gallic acid, Ascorbic acid, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-2-carboxylic (Trolox) đạt hạng phân tích mua từ Sigma (Mỹ). Thuốc thử Folin-Ciocalteu và ethanol đạt hạng phân tích mua của hãng Merck (Đức).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thu mẫu

Tất cả lá ổi sử dụng trong nghiên cứu được tuyển chọn từ cùng một cây ổi và chỉ lựa chọn những lá già để nghiên cứu. Nguyên liệu sau khi thu hái được vận chuyển nhanh về phòng thí nghiệm (không quá 1 giờ) để tiến hành các xử lý tiếp theo. Nguyên liệu được làm khô dưới ánh nắng tự nhiên cho đến khi độ ẩm đạt khoảng 10%, sau đó được cắt nhỏ bằng máy cắt (Super Blender, MX-T2GN, Japan) và sàng qua mắt lưới ($\phi = 2\text{mm}$) để thu được mẫu có kích thước đồng nhất. Mẫu này được bao gói hút chân không và bảo quản ở -66°C trước khi tiến hành các bước tiếp theo.

2.2.2. Bố trí nghiệm tối ưu hóa điều kiện chiết

Phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology) được lựa chọn để tối ưu hóa điều kiện chiết polyphenol từ lá ổi. Bốn thông số quan trọng của quá trình chiết được nghiên cứu bao gồm: Nhiệt độ (X_1), thời gian (X_2), tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (X_3) và nồng độ ethanol (X_4). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu trực tâm quay (Rotatable Central Composite Design) và ma trận thí nghiệm được xây dựng bằng phần mềm Statgraphic 15.0. Trong các

Bảng 1. Ma trận bố trí thí nghiệm mã hóa các biến độc lập

Tên biến		Mức nghiên cứu				
Biến thực	Biến mã	- α	- 1	0	+ 1	+ α
X ₁ : Nhiệt độ chiết (°C)	U ₁	50	60	70	80	90
X ₂ : Thời gian chiết (phút)	U ₂	50	60	70	80	90
X ₃ : Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (g/ml)	U ₃	30	40	50	60	70
X ₄ : Nồng độ ethanol (%)	U ₄	30	40	50	60	70

Ghi chú: $\alpha = 2$, U_{max} , U_{min} là giá trị cận trên (+1) và cận dưới (-1) của biến độc lập, $U_0 = (U_{min} + U_{max})/2$ là giá trị trung bình của cận trên và cận dưới.

nghiên cứu thăm dò, chúng tôi đã xác định được giá trị biên của các nhân tố chiết như trình bày trong bảng 1. Trong số 27 thí nghiệm được tiến hành (Bảng 2), 16(2⁴) thí nghiệm ở hai mức (trên và dưới), 8 (2 × 4) thí nghiệm ở điểm sao và 3 thí nghiệm ở tâm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai có dạng tổng quát như sau:

$$Y_k = B_0 + \sum_{j=1}^4 B_j X_j + \sum_{i,j=1}^4 B_{ij} X_i X_j + \sum_{j=1}^4 B_{jj} X_j^2$$

Trong đó:

Y_k: Biến phụ thuộc (k = 1 - 4)

X_{ij}: Nhân tố mã hóa của biến độc lập ảnh hưởng đến Y_k

B₀: Hệ số hồi qui bậc 0

B_j: Hệ số hồi qui bậc 1 mô tả ảnh hưởng của biến X_j đến Y_k

B_{ij}: Hệ số ảnh hưởng đồng thời của biến X_i và X_j đến Y_k

B_{jj}: Hệ số hồi qui bậc hai mô tả ảnh hưởng của biến X_j² đến Y_k

Trong tất cả các thí nghiệm trên, nguyên liệu lá ổi khô kích thước đồng nhất, đã được rây qua lỗ sàng ϕ 2mm. Khối lượng nguyên liệu cho mỗi lần chiết là 2g. Quá trình chiết được thực hiện trong bể ổn nhiệt (Elma, S 300H, Elmasonic, Đức) có kiểm soát nhiệt độ với độ chính xác $\pm 0,1$. Dịch lọc thu được sau quá trình ly tâm ở 4°C, tốc độ 5.000rpm trong 15 phút (Centrifuge, Labentech, Mega 17R, Germany), được bay hơi dưới điều kiện áp suất thấp trên

thiết bị cô quay chân không (RV10, Digital V, IKA, Đức). Sau đó, phần chất rắn thu được sẽ được hòa loãng lại trong nước cất hai lần đúng bằng thể tích dung môi chiết ban đầu để thu được dịch chiết thô, dịch chiết này được sử dụng để tiến hành xác định hàm lượng polyphenol tổng số.

2.2.3. Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định theo 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 0,1ml dịch chiết đã pha loãng trộn với 0,9ml nước cất trước khi thêm 1ml thuốc thử Folin-Ciocalteu. Hỗn hợp được trộn đều trước khi thêm 2,5ml Na₂CO₃ 7,5%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được giữ ở 30°C trong 30 phút trước khi đo bước sóng ở 760nm trên máy quang phổ kế (Carry 50, Varian, Australia). Kết quả được trình bày bởi đương lượng miligam Gallic acid (mg GAE)/g chất khô.

2.2.4. Xác định hoạt tính chống oxi hóa

Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết từ lá ổi thu được tại điều kiện chiết tối ưu được xác định dựa vào khả năng khử gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Đây là một phép thử nhằm xác định hoạt tính chống oxi hóa được sử dụng phổ biến nhất trong nghiên cứu về các chất chống oxi hóa.

Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo phương pháp của Fu and Shieh (2002) với một vài hiệu chỉnh nhỏ. Cụ thể như sau: Khoảng 20 - 140 μ l dịch chiết đã pha loãng đến nồng độ thích hợp được trộn với nước cất để đạt

thể tích tổng cộng 3ml. Sau đó thêm 1ml dung dịch DPPH 0,1mm, lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thu quang học được đo ở bước sóng 517nm (Carry 50, Varian, Australia). Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (A_{CT} - A_{SP})/A_{CT}.$$

Trong đó: A_{CT} : Độ hấp thu quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết, A_{SP} : Độ hấp thu quang học của mẫu có chứa dịch chiết.

Kết quả báo cáo bởi giá trị IC_{50} là nồng độ 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.

2.2.5. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần. Kết quả trình bày là giá trị trung bình. Số liệu được phân tích bằng phần mềm Stagraphic 15.0 (Statpoint, Inc., USA) để xây dựng mô hình toán học của quá trình chiết cũng như xác định các giá trị tối ưu. Hình vẽ được thực hiện trên phần mềm Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

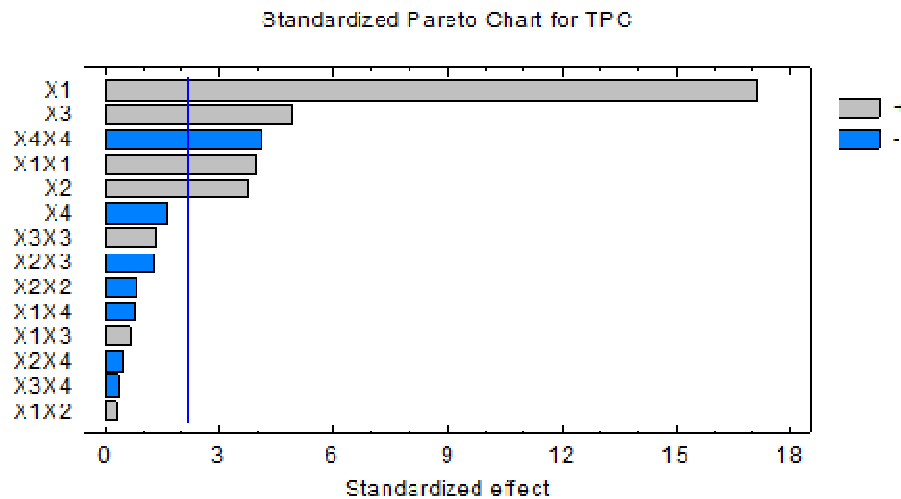
3.1. Ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm lượng polyphenol

Ảnh hưởng của các nhân tố chiết: Nhiệt độ (X_1), thời gian (X_2), tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (X_3) và nồng độ ethanol (X_4) đến hàm lượng polyphenol tổng được thể hiện trong bảng 2 và

Bảng 2. Kết quả bố trí thí nghiệm đầy đủ theo qui hoạch trực tâm quay (RCCD)

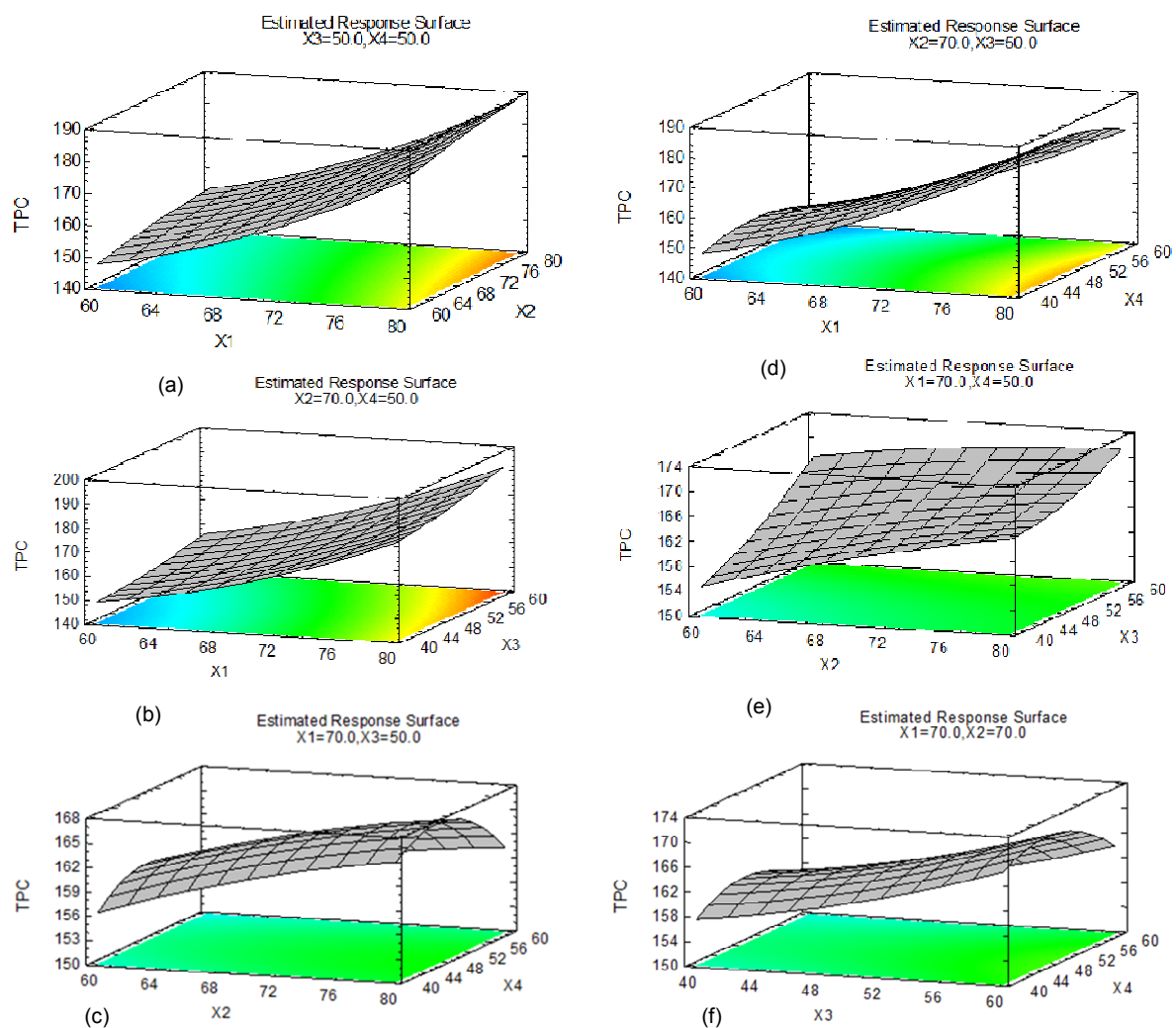
Stt	Biến thực				Biến mã hóa				Hàm mục tiêu Y
	X_1	X_2	X_3	X_4	U_1	U_2	U_3	U_4	
1	60	60	40	40	- 1	- 1	- 1	- 1	134,83
2	60	60	40	60	- 1	- 1	- 1	+ 1	145,35
3	60	60	60	40	- 1	- 1	+ 1	- 1	152,74
4	60	60	60	60	- 1	- 1	+ 1	+ 1	149,66
5	60	80	40	40	- 1	+ 1	- 1	- 1	150,43
6	60	80	40	60	- 1	+ 1	- 1	+ 1	148,79
7	60	80	60	40	- 1	+ 1	+ 1	- 1	157,38
8	60	80	60	60	- 1	+ 1	+ 1	+ 1	155,35
9	80	60	40	40	+ 1	- 1	- 1	- 1	172,87
10	80	60	40	60	+ 1	- 1	- 1	+ 1	162,93
11	80	60	60	40	+ 1	- 1	+ 1	- 1	182,21
12	80	60	60	60	+ 1	- 1	+ 1	+ 1	185,76
13	80	80	40	40	+ 1	+ 1	- 1	- 1	180,30
14	80	80	40	60	+ 1	+ 1	- 1	+ 1	181,47
15	80	80	60	40	+ 1	+ 1	+ 1	- 1	191,70
16	80	80	60	60	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1	185,90
17*	50	70	50	50	- 2	0	0	0	141,68
18*	90	70	50	50	+ 2	0	0	0	217,63
19*	70	50	50	50	0	- 2	0	0	154,21
20*	70	90	50	50	0	+ 2	0	0	165,67
21*	70	70	30	50	0	0	- 2	0	161,22
22*	70	70	70	50	0	0	+ 2	0	176,57
23*	70	70	50	30	0	0	0	- 2	154,12
24*	70	70	50	70	0	0	0	+ 2	138,75
25 ^c	70	70	50	50	0	0	0	0	166,32
26 ^c	70	70	50	50	0	0	0	0	163,95
27 ^c	70	70	50	50	0	0	0	0	162,02

Ghi chú: (*) thí nghiệm được tiến hành tại điểm sao, (c) thí nghiệm được tiến hành tại điểm tâm.



Hình 1. Ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm mục tiêu (hàm lượng polyphenol tổng)

Ghi chú: Đường thẳng kẻ đứng chỉ ra mức độ ảnh hưởng của các nhân tố chiết (X_1 , X_2 , X_3 và X_4) đến hàm mục tiêu. Dấu cộng (+) chỉ ra mức độ ảnh hưởng dương, dấu trừ (-) chỉ ra mức độ ảnh hưởng âm.



Hình 2. Ảnh hưởng tương tác của các nhân tố chiết (X_1 , X_2 , X_3 , X_4) đến hàm mục tiêu

hình 1. Kết quả cho thấy cả bốn nhân tố chiết đều có ảnh hưởng đáng kể đến hàm mục tiêu. Kết quả này cũng phù hợp với xu hướng chung của các quá trình chiết các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu thực vật. Theo đó, các nhân tố chiết như: Nhiệt độ, thời gian, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ dung môi đều có ảnh hưởng đến quá trình chiết các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu trong đó có polyphenol.

Kết quả cũng chỉ ra rằng cả bốn nhân tố chiết gồm: X_1 , X_2 , X_3 , và X_4 đều có tương tác với nhau và ảnh hưởng đến hàm mục tiêu. Cụ thể: X_1 , X_2 , X_3 có tương tác dương đến hàm mục tiêu (Hình 2a, 2b, 2e). Trong khi đó, ảnh hưởng của nhân tố X_4 tăng dần đến một giá trị tới hạn, nếu tiếp tục tăng sẽ làm giảm giá trị chung của hàm mục tiêu (thể hiện qua mặt cong trong các Hình 2c, 2d, 2f). Như vậy, từ những kết quả đạt được có thể thấy rằng trong phạm vi nghiên cứu, khi tăng giá trị của nhiệt độ, thời gian và tỉ lệ dung môi/nguyên liệu sẽ dẫn đến tăng giá trị cho hàm mục tiêu. Ngược lại, đối với nhân tố chiết là nồng độ ethanol thì việc tăng nồng độ đến một giá trị thích hợp sẽ làm tăng giá trị cho hàm

mục tiêu. Tuy nhiên, nếu tăng nồng độ vượt quá giá trị tới sẽ không có lợi và điều này làm giảm giá trị của hàm mục tiêu.

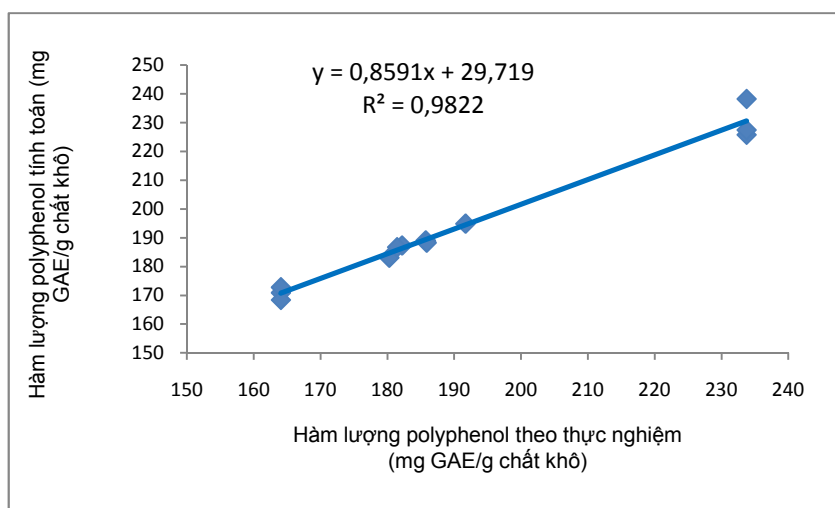
3.2. Tối ưu hóa điều kiện chiết

Bảng 3 trình bày kết quả phân tích phương sai (ANOVA) ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm mục tiêu. Kết quả cho thấy các biến: X_1 , X_2 , X_3 , X_1^2 và X_4^2 có ảnh hưởng đáng kể đến hàm mục tiêu ($p < 0,05$). Các biến khác (thể hiện trong Bảng 3) mặc dù không có ảnh hưởng đáng kể đến hàm mục tiêu ($p > 0,05$), nhưng vì các biến đơn có ảnh hưởng đáng kể nên các biến tương tác của chúng cũng được giữ lại trong mô hình để tiến hành tối ưu hóa. Riêng biến đơn X_4 mặc dù không có ảnh hưởng đáng kể, nhưng tương tác bậc hai (X_4^2) của biến này có ảnh hưởng đáng kể nên cũng được giữ lại để phân tích tối ưu sau này.

Tiến hành xử lý số liệu bằng phần mềm Stagraphic 15.0 sử dụng thuật toán tối ưu (optimization) thu được mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của bốn nhân tố chiết đến hàm mục tiêu như sau:

Bảng 3. Bảng phân tích phương sai (ANOVA) ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm mục tiêu

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p
X_1	6683,44	1	6683,44	293,50	0,0000
X_2	321,856	1	321,856	14,13	0,0027
X_3	545,643	1	545,643	23,96	0,0004
X_4	60,135	1	60,135	2,64	0,1301
X_1^2	354,813	1	354,813	15,58	0,0019
X_1X_2	2,427	1	2,427	0,11	0,7497
X_1X_3	9,41661	1	9,41661	0,41	0,5323
X_1X_4	13,6816	1	13,6816	0,60	0,4533
X_2^2	15,4463	1	15,4463	0,68	0,4262
X_2X_3	39,2	1	39,2	1,72	0,2141
X_2X_4	5,46764	1	5,46764	0,24	0,6330
X_3^2	41,034	1	41,034	1,80	0,2043
X_3X_4	3,47509	1	3,47509	0,15	0,7029
X_4^2	381,097	1	381,097	16,74	0,0015
Tổng sai số	273,261	12	22,7718		



Hình 3. Mối tương quan giữa mô hình lý thuyết và thực nghiệm mô tả ảnh hưởng của các nhân tố đến quá trình chiết polyphenol từ lá ổi

$$Y = 19,54 - 4,234 X_1 + 2,36 X_2 - 0,118 X_3 + 5,358 X_4 + 0,041 X_1^2 + 0,004 X_1 X_2 + 0,008 X_1 X_3 - 0,009 X_1 X_4 - 0,009 X_2^2 - 0,016 X_2 X_3 - 0,006 X_2 X_4 + 0,014 X_3^2 - 0,005 X_3 X_4 - 0,042 X_4^2$$

Giá trị p của kiểm định sự không tương thích của mô hình (lack of fit) là 0,7770 lớn hơn 0,05. Do đó, mô hình hồi qui trên tương thích với thực nghiệm.

Bằng các thuật toán phân tích tối ưu (optimization) sử dụng phần mềm Stagraphic 15.0 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu như sau: $X_1 = 90$ (°C), $X_2 = 76,5$ (phút), $X_3 = 70$ (ml/g) và $X_4 = 44,3$ (%).

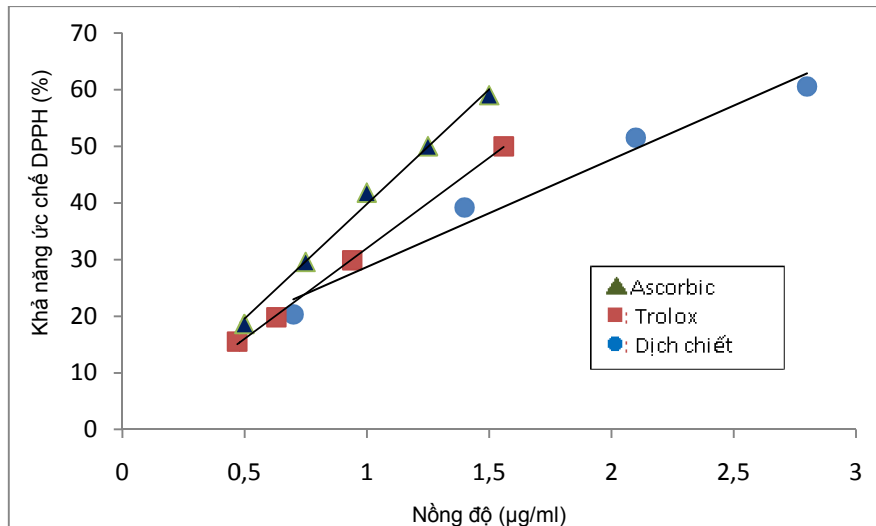
Hàm lượng polyphenol tổng thu được tại điều kiện chiết tối ưu là: 233,76 mg GAE/g chất khô. Hàm lượng polyphenol của lá ổi cũng đã được nghiên cứu và công bố bởi một số tác giả. Theo Lại Thị Ngọc Hà và cs. (2012), lá ổi có hàm lượng polyphenol là 147,7 mg GAE/g chất khô. Trong khi đó, Nguyễn Xuân Duy và Hồ Bá Vương (2013) công bố hàm lượng polyphenol của lá ổi là 146,5 mg GAE/g chất khô. Như vậy, so với công bố của một số tác giả trên, hàm lượng polyphenol thu được trong điều kiện chiết tối ưu của nghiên cứu này cao hơn nhiều.

Để kiểm chứng sự chính xác của mô hình xây dựng so với thực nghiệm, các thí nghiệm kiểm chứng sự phù hợp của mô hình được tiến hành tại một số điểm trong vùng qui hoạch. Kết

quả thể hiện trên hình 3 cho thấy có một sự tương quan khá cao giữa mô hình xác định được so với số liệu thực nghiệm với hệ số tương quan $R^2 = 0,9822$. Kết quả này cho thấy sự phù hợp cao giữa mô hình xây dựng với thực nghiệm. Điều đó cho phép có thể sử dụng mô hình này để đánh giá ảnh hưởng của các nhân tố chiết (X_1 , X_2 , X_3 và X_4) đến hiệu suất chiết polyphenol từ lá ổi. Đây có thể được xem là công bố đầu tiên ở Việt Nam về nghiên cứu ảnh hưởng của đồng thời bốn yếu tố chiết đến quá trình chiết polyphenol từ lá ổi.

3.3. Hoạt tính chống oxi hóa của dịch chiết thu được từ lá ổi ở điều kiện tối ưu

Khả năng thu gốc tự do DPPH là một trong những phép phân tích để đánh giá hoạt tính chống oxi hóa *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 and Takayuki, 2009). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng có một mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng polyphenol với hoạt tính chống oxi hóa (Suganya et al., 2007; Hui-Yin Chen and Gow-Chin Yen, 2007; Trương Tuyết Mai và cs., 2010; Nguyễn Xuân Duy và Hồ Bá Vương, 2013). Hình 4 trình bày kết quả xác định khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết từ lá ổi ở điều kiện tối ưu trong sự so sánh với các chất chống oxi hóa thương mại. Nhìn chung, khả



Hình 4. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết lá ổi thu được ở điều kiện chiết tối ưu so với Ascorbic acid và Trolox

Ghi chú: Các giá trị biểu diễn trong hình 4 là giá trị trung bình của ba lần lặp lại.

năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết lá ổi phụ thuộc vào nồng độ hay nói cách khác khi nồng độ tăng thì khả năng khử gốc tự do DPPH tăng. Để có thể so sánh với các chất chống oxy hóa thương mại như: Ascorbic acid và Trolox (một loại chất chống oxy hóa tổng hợp tương tự Vitamin E nhưng có khả năng tan cả trong dầu và nước), giá trị IC₅₀ được tính toán. IC₅₀ là nồng độ của chất chống oxy hóa mà tại đó khử được 50% gốc tự do DPPH trong điều kiện thí nghiệm. Giá trị IC₅₀ của dịch chiết lá ổi là 2,1 µg/ml, trong khi đó giá trị này của Ascorbic acid và Trolox lần lượt là 1,3 và 1,6 µg/ml. Như vậy, mặc dù giá trị IC₅₀ của dịch chiết lá ổi cao hơn Ascorbic acid và Trolox, nhưng hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết với giá trị IC₅₀ như vậy là khá mạnh. Ascorbic acid và Trolox là hai chất chống oxy hóa rất mạnh. Sở dĩ hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết lá ổi thấp hơn so với Ascorbic và Trolox có thể được lý giải là vì Ascorbic và Trolox là những chất chống oxy hóa thương mại rất mạnh và thuộc dạng tinh khiết. Trong khi đó, dịch chiết lá ổi chỉ là dịch chiết thô, chưa đạt được độ tinh khiết cao. Vì vậy, để cải thiện hoạt tính khử gốc tự do DPPH và có thể so sánh với các chất chống oxy hóa thương mại, cần thực hiện các bước tiếp theo để tinh sạch dịch chiết.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của bốn nhân tố chiết (nhiệt độ, thời gian, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ ethanol) đến hàm lượng polyphenol từ lá ổi xẻ. Các giá trị tối ưu để chiết polyphenol từ lá ổi xẻ như sau: Dung môi chiết ethanol 44,3%, nhiệt độ chiết 90°C, thời gian chiết 76,5 phút và tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 70/1 (ml/g). Tại điều kiện chiết tối ưu, hàm lượng polyphenol thu được là 233,76 mg GAE/g chất khô. Dịch chiết polyphenol thu được ở điều kiện tối ưu thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao đối với phép thử khả năng thu gốc tự do DPPH, với giá trị IC₅₀ là 2,1 µg/ml.

Những phát hiện của chúng tôi chỉ ra tiềm năng sử dụng lá ổi xẻ như một nguồn chiết xuất chất chống oxy hóa tự nhiên để nâng cao khả năng ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm chức năng.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Công ty TNHH Thiết bị Khoa học Kỹ thuật Thiên Ấn (TP. HCM) đã hỗ trợ một phần kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amarowicz, R., Peggb, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551 - 562.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.*, 74: 2157 - 2184.
- Dong-Hyun You, Ji-Won Park, Hyun-Gyun Yuk, and Seung-Cheol Lee (2011). Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activities of Different Parts of Guava (*Psidium guajava* L.). *Food Sci. Biotechnol.*, 20(4): 1095 - 1100.
- 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.
- Nguyen Xuan Duy, Ho Ba Vuong and Nguyen Anh Tuan (2013). Antioxidant and polyphenoloxidase inhibitory activity of Vietnam edible plants and its application in fishery quality improvement. *Journal of Fisheries Science and Technology, Special Issue*, p. 50 - 57.
- Nguyễn Xuân Duy và Nguyễn Anh Tuấn (2013). Sàng lọc các thực vật có hoạt tính chống oxi hóa và áp dụng trong chế biến thủy sản. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 28: 59 - 68.
- Fu, H., Y. and Shieh, D., E. (2002). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipid*, 9: 35 - 46.
- Huda-Faujan, N., Noriham, A., Norrakiah, A. S., Babji, A. S. (2009). Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *African Journal of Biotechnology*, 8(3): 484 - 489.
- Ho Minh Hiep, Nguyen Anh Tuan, Nguyen Xuan Duy (2013). Studies on retardation of lipid oxidation in oil-fish meat during refrigerated storage by guava leaf extract. *International conference on postharvest technology, food chemistry and processing: "Developing the supply chain towards more healthy food"*, Ha Noi University of Agriculture, Nov. 11-13rd, 2013, Ha Noi, Viet Nam.
- Lại Thị Ngọc Hà, Vũ Thị Thoan, Trần Văn Hiếu (2012). Polyphenol từ lá ổi: hàm lượng, khả năng kháng oxi hóa và điều kiện tách chiết. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm* 8(4).
- Hui-Yin Chen and Gow-Chin Yen (2007). Antioxidant activity and free radical - scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium Guajava* L.) leaves. *Food Chemistry*, 101: 686 - 694.
- Jin, D. and Russell, J. M. (2010). Plant phenolic: Extraction, analysis and antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15: 7313 - 7352.
- Joon-Kwan Moon and Takayuki Shibamoto (2009). Antioxidant assays for plant and food components: Reviews. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 1655 - 1666.
- Marja, P. Kahkonen, Anu, I. H., Heikki, J. V., Jussi-Pekka, R., Kalevi, P., Tytti, S. K., Marina, H. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 3954 - 3961.
- Myers, R. H and Montgomery, D.C. (2002). Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York.
- Rosa Martha Pérez Gutiérrez, Sylvia Mitchell, Rosario Vargas Solis (2008). *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117: 1 - 27.
- 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.
- 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.
- 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 ổi và lá sen. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, 8(1): 33 - 38.
- Witayapan Nantitanon, Songwut Yotsawimonwat and Siriporn Okonogi (2010). Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. *LWT - Food Science and Technology*, 43(7): 1095 - 1103.