

CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUY TRÌNH CHIẾT POLYPHENOL TỔNG TRONG RAU RẨM (*POLYGONUM ODORATUM* LOUR) BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾT SIÊU ÂM

● NGUYỄN THỊ THU HÀ - NGUYỄN THIÊN THẢO*

TÓM TẮT:

Rau răm là loại cây có nguồn gốc tự nhiên và được nhiều người biết đến có tên khoa học là *Polygonum odoratum*, thuộc họ rau răm *Polygonaceae*, thuộc chi *Polygonum*, chứa nhiều hoạt chất sinh học như: flavonoid, polyphenol, terpenoid... Polyphenol trong rau răm được chiết bằng phương pháp hỗ trợ siêu âm. Nghiên cứu nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến điều kiện chiết polyphenol tổng: dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nồng độ của dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm là $61,610 \pm 0,693$ mg GAE/g (quy về gallic acid/g bột khô) ứng với điều kiện chiết: Dung môi ethanol với nồng độ ethanol 50%; nhiệt độ chiết 60°; thời gian: 2 giờ; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5.

Từ khóa: *Polygonum odoratum* Lour, rau răm, chiết Polyphenol tổng, phương pháp chiết siêu âm.

1. Đặt vấn đề

Nghiên cứu ứng dụng các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học vào đời sống đang rất được các nhà khoa học quan tâm. Các chất chống oxy hóa, điển hình như polyphenol cũng đang được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực của cuộc sống. Các hợp chất polyphenol hiện diện phổ biến trong tất cả các bộ phận của cây và là thành phần quan trọng trong nông sản (rau quả, ngũ cốc,...). Trong đó, rau răm là loại cây không những được biết đến là gia vị trong các món ăn mà còn được biết đến trong y học cổ truyền, được dùng như một loại thuốc để chữa một số bệnh như: kháng vi khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, chống ung thư, lưu thông máu,... [1-2].

Việc nghiên cứu ứng dụng cao chiết polyphenol đã được quan tâm nghiên cứu trên cây được liệu như hà thủ ô đỏ, lá sa kê, chuối hột, chuối già, vỏ quả ca cao, vỏ quả gấc [3-7]. Tuy nhiên, ở đối tượng là rau

răm vẫn chưa có công bố khoa học chính thức nào về điều kiện chiết polyphenol từ rau răm mà chỉ có công trình của Tiến sĩ Phan Thị Anh Đào ở Trung tâm Phát triển Khoa học và Công nghệ Trẻ nghiên cứu chế phẩm sinh học từ dịch chiết rau răm ứng dụng bảo quản tôm thẻ chân trắng.

Việc khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết Polyphenol tổng trong rau răm (*Polygonum odoratum* Lour) bằng phương pháp chiết siêu âm được thực hiện để góp phần đa dạng hóa nguồn nguyên liệu chiết tách polyphenol.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu

Cây rau răm được thu mua tại huyện Cầu Kè, tỉnh Trà Vinh. Mẫu sau khi thu hái được sấy khô ở 50°C, sau đó xay thành bột mịn, dùng làm nguyên liệu cho quá trình nghiên cứu.

2.1.2. Hóa chất và thiết bị

Hóa chất sử dụng: Ethanol (Merck), Gallic acid (Acros), Methanol (Merck), Follin-Ciocalteu (Merck), Na_2CO_3 (Merck), n-Propanol...

Thiết bị nghiên cứu: Máy quang phổ UV-VIS Shimadzu UV-1800, thiết bị ly tâm Hettich UNIVERSAL 320, bể đánh siêu âm Elma S100H, tủ sấy đối lưu FD 23 Binder-Đức, thiết bị nghiền được liệu CS-300A và một số thiết bị liên quan khác. (Hình 1)

Hình 1: Rau răm



2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu quy trình ly trích dịch chiết rau răm

Phương pháp thực hiện: Cân 5g bột rau răm (độ ẩm < 10%) cho vào bình tam giác, chiết bằng thiết bị chiết siêu âm ở điều kiện khảo sát. Nghiên cứu tiến hành khảo sát các yếu tố có ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol trong quá trình chiết như: loại dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nồng độ của dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết. Dịch chiết sau khi thu được sẽ ly tâm 9000 vòng trong 10 phút, lọc và thu dịch chiết. Cuối cùng thực hiện phản ứng với thuốc thử folin-ciocalteu. Xây dựng đường chuẩn dựa vào acid gallic để xác định nồng độ polyphenol tổng trong rau răm bằng UV-Vis. (Sơ đồ 1)

2.2.2. Phương pháp định lượng polyphenol tổng trong rau răm

Phương pháp dùng thuốc thử folin-ciocalteu là phương pháp phổ biến dùng để xác định hàm lượng phenolic tổng do trong thành phần thuốc thử folin-ciocalteu có phức hợp phospho-wolfram-phosphomolybdate bị khử bởi các hợp chất polyphenol tạo thành sản

phẩm phản ứng có màu xanh dương, hấp thụ cực đại ở bước sóng 773 nm. Hàm lượng polyphenol có trong mẫu tỷ lệ thuận với cường độ mẫu và được tính theo hàm lượng acid gallic. Mẫu sau khi cho phản ứng với thuốc thử folin-ciocalteu, lắc đều trong 1 phút. Để yên ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Thêm 4,0 mL dung dịch Na_2CO_3 7,5%. Lắc đều trong 2 phút, để yên ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Sau đó tiến hành đo UV ở bước sóng 773nm [2, 8].

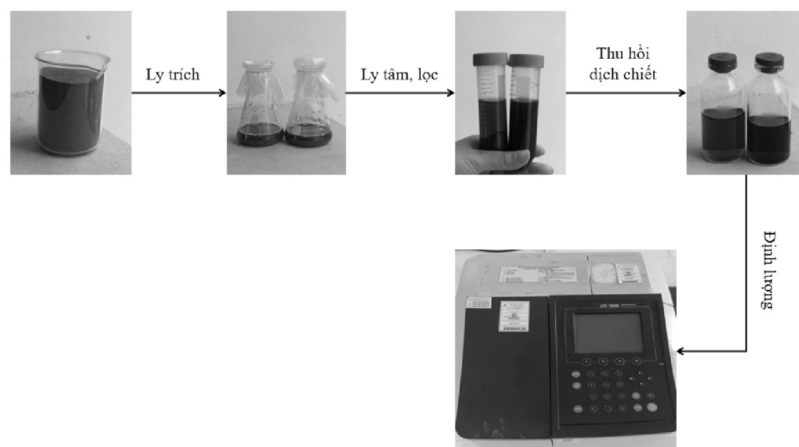
Dựa vào phương trình đường chuẩn đã được xây dựng để định lượng polyphenol tổng trong rau răm như phương trình: $y = 0,01084x - 0,00309$. Với $R^2 = 0,99992$. Trong đó: y là độ hấp thụ; x là nồng độ của dung dịch acid gallic chuẩn ($\mu\text{g/mL}$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả sự ảnh hưởng của dung môi chiết đến hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm

Việc lựa chọn dung môi có thể ảnh hưởng đến hàm lượng các hợp chất phenol chiết tách được. Độ hòa tan của các hợp chất phenol chịu ảnh hưởng lớn bởi độ phân cực của dung môi sử dụng. Trong chiết các hợp chất polyphenol, các dung môi có độ phân cực cao như nước hoặc ít phân cực như: chloroform, hexane thường không cho hiệu suất cao. Nếu quá trình chiết hướng đến thu được nhiều loại hợp chất khác nhau thì thường sử dụng hỗn hợp các loại dung môi để tạo ra một dung môi có độ phân cực trung bình. Do vậy, việc lựa chọn dung môi thích hợp sẽ cải thiện hiệu suất ly trích [9]. Với cùng một lượng nguyên liệu, nếu ta thay đổi hệ dung môi thì kết

Sơ đồ 1: Quy trình định lượng polyphenol tổng trong rau răm bằng phương pháp UV-Vis



quả của hiệu suất ly trích sẽ thay đổi khác nhau. (Hình 2)

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của dung môi chiết cho thấy, khi sử dụng dung môi ethanol cho hiệu suất chiết cao hơn các dung môi còn lại. Đây cũng là dung môi được áp dụng trong quy trình chiết polyphenol từ lá *Persicaria Pulchra* thuộc họ rau răm [10]. Trong một số nghiên cứu trước đó cho thấy, có thể sử dụng ethyl acetate làm dung môi ly trích [11-12] mặc dù hiệu suất không cao.

3.2. Kết quả sự ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi. Nghiên cứu tiến hành thử nghiệm với các nồng độ dung môi ethanol lần lượt là 30%, 40%, 50%, 60% và 70%. Cố định lượng nguyên liệu chiết, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/6; nhiệt độ chiết xuất 60°C; thời gian chiết trong 3 giờ. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 3.

Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol tăng dần ở các nồng độ từ 30%, 40%, 50% và giảm dần ở khoảng nồng độ 60% và 70%. Trong nghiên cứu tổng hợp polyphenol từ cây rau răm của Siriboon và cộng sự cũng sử dụng dung môi tương tự và cho ra kết quả lượng tổng polyphenol được xác định là 19,23 mg GAE/g [13]. Kết quả khảo sát cho thấy, ở điều kiện chiết với nồng độ dung môi 50% sẽ cho hàm lượng polyphenol tổng cao nhất là 48,849 mg/g. Do đó, ethanol 50% được lựa chọn.

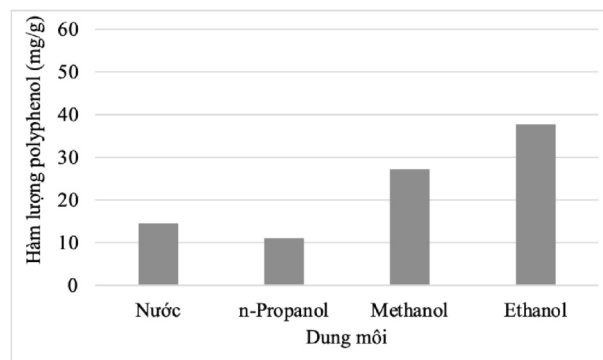
3.3. Kết quả sự ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm

Thời gian chiết không những ảnh hưởng đến hiệu suất chiết, mà còn ảnh hưởng đến chất lượng dịch chiết. Đánh giá các khoảng thời gian chiết 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ và 5 giờ. Kết quả được trình bày tại Hình 4.

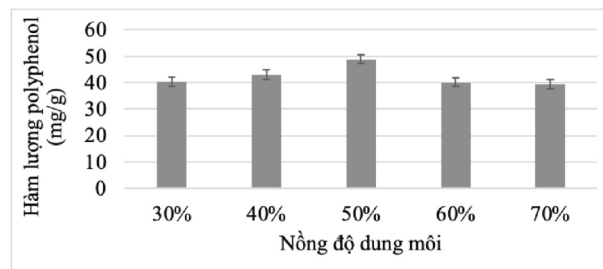
Như vậy, khi tăng thời gian chiết từ 1- 2 giờ thì hàm lượng polyphenol và hiệu suất chiết đều tăng. Tuy nhiên, khi tăng thời gian chiết đến 3 giờ thì nồng độ polyphenol có dấu hiệu giảm dần. Điều này có thể do thời gian chiết dài làm đến sự phân hủy một số hợp chất, dẫn đến cả hàm lượng polyphenol và hiệu suất đều giảm [13].

Thời gian chiết là yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ polyphenol. Thời gian chiết ngắn cho hiệu suất chiết thấp, ngược lại nếu thời gian quá dài sẽ có thể

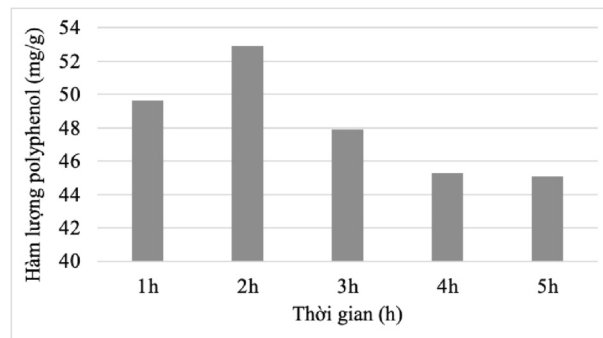
Hình 2: Biểu đồ kết quả khảo sát ảnh hưởng của dung môi chiết



Hình 3: Biểu đồ kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi



Hình 4: Biểu đồ kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết



làm tăng nguy cơ oxy hóa các hợp chất polyphenol.

Trong nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Mai và cộng sự (2018) đã khảo sát các thời gian chiết 30, 60, 90, 150 phút cho thấy: ở thời gian chiết 30 phút thì cho kết quả hàm lượng thấp nhất, khi tăng thời gian chiết lên 60, 90 phút thì độ thu hồi thay đổi không đáng kể và đều cho hàm lượng polyphenol cao, khi tăng thời gian chiết lên 150 phút hàm lượng polyphenol lại bị giảm đi [14-15]. Do vậy, tác giả lựa chọn thời gian chiết 2 giờ là phù hợp với kết quả thực nghiệm.

3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm

Cùng với thời gian chiết, dung môi, nồng độ dung môi thì nhiệt độ chiết cũng là yếu tố quan trọng có ảnh hưởng đến hiệu suất chiết của dịch chiết. Để đánh giá sự ảnh hưởng của nhiệt độ, nghiên cứu tiến hành khảo sát từ nhiệt độ 40°C - 70°C. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 5.

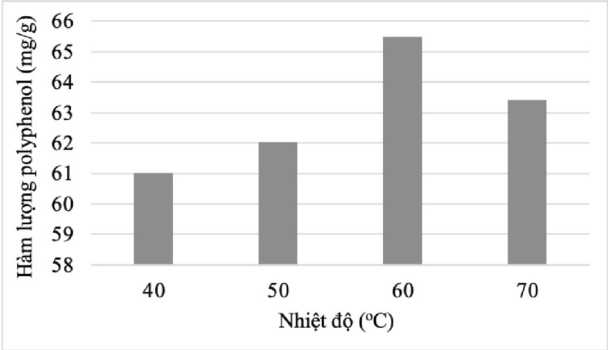
Kết quả cho thấy, trong khoảng nhiệt độ chiết tăng từ 40°C đến 60°C thì hàm lượng polyphenol thu được tăng. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng đến 70°C thì hàm lượng polyphenol giảm. Điều này có thể giải thích là do khi chiết ở nhiệt độ thấp làm chậm quá trình truyền khối dẫn đến hàm lượng polyphenol thấp. Trong trường hợp chiết ở nhiệt độ quá cao, dung môi bị bay hơi nhiều, đồng thời có thể một phần polyphenol đã bị oxy hóa và làm giảm hiệu suất chiết. Trong nghiên cứu của [16] đã chỉ ra, hiệu suất ly trích polyphenol được tăng cường khi tăng nhiệt độ ly trích. Nhiệt độ cao làm giảm độ nhớt của dung môi, tăng tính bán thấm của thành tế bào, tăng độ hòa tan và hệ số khuếch tán của chất cần ly trích. Do đó, có thể cải thiện được năng suất chiết. Tuy vậy, polyphenol rất không ổn định và bị phá hủy ở nhiệt độ cao [17-18]. Như vậy, qua kết quả khảo sát trên thì chiết ở nhiệt độ 60° được chọn là nhiệt độ chiết tối ưu cho khảo sát tiếp theo.

3.5. Kết quả sự ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

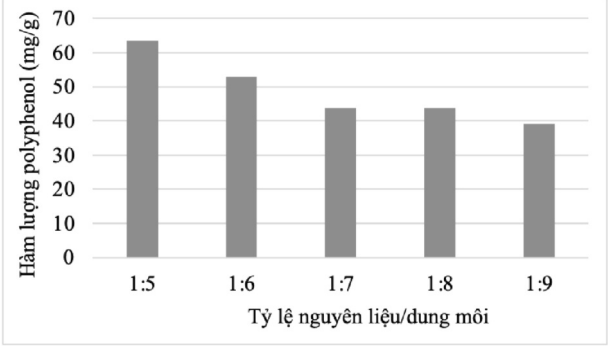
Nếu ta tăng lượng dung môi sử dụng thì hiệu suất chiết sẽ tăng theo do sự chênh lệch nồng độ của dung môi và nguyên liệu. Tuy nhiên, nếu lượng dung môi sử dụng quá lớn thì sẽ làm loãng nồng độ của dịch chiết. Vì vậy, cần phải chọn tỷ lệ giữa nguyên liệu và dung môi cho phù hợp. Để đánh giá ảnh hưởng giữa nguyên liệu/dung môi được khảo sát ở các tỷ lệ sau: 1/5, 1/6, 1/7, 1/8, 1/9. Kết quả được trình bày tại Hình 6.

Qua kết quả khảo sát cho thấy, khi lượng dung môi càng thấp thì hiệu suất chiết tăng. Mặt khác, khi sử dụng lượng dung môi lớn dẫn đến việc tốn dung môi và mất thời gian thu hồi dung môi và cao chiết. Như vậy, có thể thấy ở điều kiện khảo sát với tỷ lệ 1/5 sẽ thu được hàm lượng polyphenol cao nhất nên được chọn là tỷ lệ rắn lỏng tối ưu để

Hình 5: Biểu đồ kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết



Hình 6: Biểu đồ kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi



Bảng 1. Kết quả hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm ở 3 ngày

STT	Tên mẫu	Nồng độ (µg/mL)	Polyphenol tổng (mg GAE/g)
Ngày 1	N1	27,855	60,952
Ngày 2	N2	28,456	62,266
Ngày 3	N3	28,157	61,612
Độ lệch chuẩn (SD)			0,693
Trung bình (TB)			61,610
Độ lệch chuẩn tương đối RSD%			1,125
TB ± SD			61,610 ± 0,693

Nguồn: Tác giả

khảo sát các yếu tố tiếp theo. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Siriboon và cộng sự, 2022 [13].

3.6. Hàm lượng polyphenol tổng trong rau răm chiết ở các điều kiện tối ưu

Kết quả thực hiện tổng hợp polyphenol được ly

trích ở điều kiện tối ưu trong 3 ngày liên tiếp trung bình đạt nồng độ polyphenol là: $61,610 \pm 0,693$ mg GAE/g. So sánh với nghiên cứu trước của Siriboon và cộng sự [13], đã nghiên cứu về tổng hợp polyphenol trong cây rau răm, kết quả thực nghiệm theo phương pháp tổng hợp trong nghiên cứu này thu được hàm lượng polyphenol tổng cao hơn. (Bảng 1)

4. Kết luận

Nghiên cứu đã tìm được điều kiện tối ưu cho quá trình ly trích polyphenol từ rau răm như sau: Dung môi ethanol với nồng độ ethanol 50%; nhiệt độ chiết 60°; thời gian: 2 giờ; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 khi kết hợp kỹ thuật siêu âm. Hàm lượng polyphenol tổng cao nhất trong rau răm đạt $61,610 \pm 0,693$ mg GAE/g ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Trần Thanh Hà (2017). Nghiên cứu thành phần hóa học của 3 loài thuộc chi *Polygonum*, họ Rau răm (*Polygonaceae*): Thầm lồm gai (*polygonum perfoliatum* L.), nghệ trắng (*Polygonum barbatum* L.), mễ tử liểu (*Polygonum plebeium* R. Br). Luận án tiến sĩ Khoa học vật chất, Trường Đại học Khoa học tự nhiên TP. Hồ Chí Minh.
2. Thanut Khuayjarernpanishk, Sontaya Sookying, Acharaporn Duangjai (2022). Anticancer Activities of *Polygonum odoratum* Lour: A Systematic Review. Front Pharmacol., 13, 875016.
3. Nguyễn Văn Tăng, Trần Thanh Giang, Huỳnh Quốc Trung, Phan Thị Bích Trâm, Phạm Châu An và Trần Thị Mỹ Hạnh (2020). Ảnh hưởng của dung môi và phương pháp ly trích đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins, alkaloid từ vỏ ca cao (*Theobroma cacao* L.) Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 56(4B), 71-78.
4. N. K. Thùy Linh và P.T. Hiền Thư (2023). Khảo sát hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng và tác dụng chống oxy hóa của vỏ quả gấc (*Momordica cochinchinensis*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Duy Tân, 02(57), 74-80.
5. Nguyễn Thị Ái Lan và Trần Chí Linh, (2022). Tối ưu hóa quy trình chiết xuất polyphenol và flavonoid từ lá cây Sa Kê (*Artocarpus altilis*). TNU Journal of Science and Technology, 227(10), 47-55.
6. Phạm Thị Minh Hoàng, Trương Quốc Tất, Nguyễn Hồng Thủy, Nguyễn Thị Ngọc Thắm, Nguyễn Duy Khánh. (2022). Ảnh hưởng của độ chín đến hàm lượng polyphenol tổng số, chlorophyll, carotenoids và hoạt tính chống oxy hóa của vỏ quả chuối già (*Musa acuminata*) trồng ở tỉnh Tiền Giang. JSTGU, (10), 61-69.
7. Lại Thị Ngọc Hà, Trần Thị Hoài, Phan Văn Hiếu, Ngô Thị Huyền Trang (2017). Ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ tách chiết polyphenol kháng oxy hóa từ quả chuối hột. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 15(5), 673-680.
8. TCVN 9745-1 (2013). Chè - xác định các chất đặc trưng của chè xanh và chè đen, phần 1: Hàm lượng polyphenol tổng số trong chè - Phương pháp đo màu dùng thuốc thử Folin- Ciocalteu.
9. ICH Guide (1997). Validation of analytical procedures: Methodology, International Conference on Harmonization. Fed. Reg, 62(2643), 45-50.
10. Liu, F.F, Ang, C.Y.W., and Springer, D, (2000). Optimization of extraction conditions for active components in *Hypericum perforatum* using surfacemethodology. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48, 3364-3371.
11. Vũ Thị Ái Xuân (2020). Tối ưu hóa hàm lượng polyphenol trong dịch chiết của *Persicaria Pvlchra* (BL.) Sojak. Tạp chí Công Thương, 18, 112.
12. Nguyễn Ngọc Nhã Thảo, Tống Thành Long, Đặng Duy Khánh, & Nguyễn Thị Trang Đài, (2022). Xây dựng phương pháp định lượng Polyphenol toàn phần trong cao đặc rau càng cua (*Peperomia Pellucida* (L.) Kunth) bằng quang phổ UV-Vis. Tạp chí Y Dược học Cần Thơ, 50, 62-68.
13. Glinubon, J., Nopparatmaitree, M., et. al. (2022). Effect of dietary supplementation with Vietnamese coriander (*Persicaria odorata*) extract on growth performance, carcass characteristics and meat quality of broilers. International Journal of Agricultural Technology, 18(2), 511-524.

14. Naczki, M., Shahidi, F, (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*, A(1054), 95-111.
15. Nguyễn Thị Ánh Hương, Phạm Thị Ngọc Mai, Lê Thái Bình, Phạm Huy Đông, Nguyễn Thị Tuyết Nhung, Phạm Tiến Đức, (2018). Xác định hàm lượng Polyphenol và EGCG trong chè và sản phẩm chè bằng UV-Vis và HPLC. *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm*, 1(1), 8-12.
16. Cacace, J.E. Mazza, G, (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59, 379- 389.
17. Escribano-Bailón, M.T. Santos-Buelga, C, (2003). Polyphenol extraction from foods, In: Williamson, and Santos-Buelga, C. *Methods in Polyphenol Analysis*, Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
18. Gertenbach, D.D, (2002). Solid-Extraction technologies for manufacturing nutraceuticals, In: Shi, J., Mazza G, and Le Moguer, M. *Functional Foods, Biochemical and processing aspect Vol 2*, Boca Raton: CRC press LLC.

Ngày nhận bài: 29/01/2024

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 18/02/2024

Ngày chấp nhận đăng bài: 28/3/2024

Thông tin tác giả:

1. NGUYỄN THỊ THU HÀ

2. NGUYỄN THIÊN THẢO*

Trường Đại học Trà Vinh

FACTORS AFFECTING THE EXTRACTION OF TOTAL POLYPHENOL FROM LASKA (*POLYGONUM ODORATUM* LOUR) BY ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION METHOD

● **NGUYEN THI THU HA¹**

● **NGUYEN THIEN THAO^{1,*}**

¹Tra Vinh University

ABSTRACT:

Laska, which is widely known and has the scientific name *Polygonum odoratum*, belongs to the Polygonaceae family and the *Polygonum* genus. It has many biologically active substances, such as flavonoids, polyphenols, terpenoids, etc. Polyphenols in Laska are extracted by the ultrasound-assisted extraction method. This study investigated the factors affecting the total polyphenol extraction conditions, such as type of solvent, material/solvent ratio, solvent concentration, temperature, and extraction time. The study's results showed that the total polyphenol content is $61,610 \pm 0,693$ mg GAE/g (converted to gallic acid/g dry powder) under the following extraction conditions: ethanol solvent with ethanol concentration of 50%; extraction temperature of 60°C; extraction time of 2 hours; and the raw material/solvent ratio of 1/5.

Keywords: *Polygonum odoratum* Lour, Laksá, UV-VIS, polyphenol, ultrasound-assisted extraction method.