

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ CÔNG NGHỆ ĐẾN HIỆU SUẤT THU HỒI POLYPHENOL TỪ LÁ CHÈ

Nguyễn Đà Giang, Nguyễn Văn Lục

(Khoa Cơ điện và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông - Lâm Bắc Giang)

TÓM TẮT

Từ lâu, những ích lợi đối với sức khỏe con người của polyphenol (trong nước chiết chè) đã được làm rõ. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, polyphenol chè có tác dụng tốt đối với bệnh ung thư, bệnh tim mạch, béo phì và có tác dụng làm chậm quá trình lão hoá, tăng tuổi thọ. Những tác dụng tuyệt vời này có được là dựa vào khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm và kháng virus của polyphenol. Bài báo công bố các kết quả nghiên cứu một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất thu hồi Polyphenol từ lá chè. Kết quả cho thấy: Nguyên liệu lá chè được sử dụng để chiết tách polyphenol là loại có 15% phần già, bánh tẻ của chè Shan được thu hái tại đồi chè thực nghiệm tại Viện Khoa học kỹ thuật Nông lâm nghiệp miền núi phía Bắc, xã Phú Hộ, thị xã Phú Thọ, tỉnh Phú Thọ. Hiệu suất trích ly cao nhất ở các thông số công nghệ như sau: Độ ẩm ở 5%, kích thước nguyên liệu 0,5 - 1 mm, dung môi sử dụng trích ly là acetone ở nồng độ 50%, thời gian trích ly là 2 giờ, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:12, nhiệt độ thích hợp là 45°C, số lần trích ly là 3 lần.

Từ khóa: Hiệu suất trích ly, polyphenol, polyphenol chè, tách chiết polyphenol.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong thế giới thực vật, chè là một trong những loại cây giàu các hợp chất phenolic nhất, hàm lượng polyphenol trong lá chè thường vào khoảng 25 - 30% chất khô (CK). Tuy vậy, hàm lượng này phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: Giống, độ non già của nguyên liệu, thời vụ thu hái... và chế độ canh tác (Vũ Thị Thu, 2001).

Liên quan đến hoạt tính sinh học, Fumio và cộng sự (1996) đã chỉ ra rằng, khả năng quét gốc tự do DPPH của các catechin chè cao gấp 6 đến 16,4 lần α - tocopherol hay từ 4,3 đến 11,8 lần vitamin C. Ngoài ra, hoạt tính này của chè xanh cũng cao gấp 1,4 lần so với hương thảo; 4,02 lần với sả; 7,3 lần với hoa nhài và 15,4 lần so với oải hương. Gần đây, khi so sánh khả năng quét gốc tự do DPPH của chè vàng (một loại chè bán lên men) với một số đối tượng khác, Barhe và Tchouya cũng chỉ ra rằng, hoạt tính này của chất chiết chè vàng > chất chiết đỗ tương > vang đỏ > hibiscus. Bên cạnh hoạt tính kháng oxy hóa, nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng chỉ ra rằng, polyphenol (chất chiết chè) có khả năng kháng được nhiều chủng vi khuẩn gây ngộ độc và gây thối hỏng thực phẩm (Mendel, 2007). Điều này cho thấy, đối tượng này không chỉ có tiềm năng ứng dụng cao trong mỹ phẩm, dược phẩm mà còn mở ra những ứng dụng quan trọng trong công nghiệp thực phẩm. Một trong số đó là sử dụng polyphenol chiết từ chè như một chất bảo quản tự nhiên không độc hại. Điều này đặc biệt có ý nghĩa

trong bối cảnh hiện nay, khi tình trạng vệ sinh an toàn thực phẩm đang ngày càng trở lên trầm trọng, mất kiểm soát ở các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam.

Việt Nam hiện đứng hàng thứ 5 thế giới về diện tích trồng chè, với khoảng 135.000 ha. Ngành công - nông nghiệp và thương mại chè đã giải quyết công ăn việc làm cho hàng triệu lao động, đặc biệt ở các vùng khó khăn, vùng trung du đồi núi. Theo thống kê của Tổng cục hải quan, trong khoảng 5 năm gần đây, kim ngạch xuất khẩu chè bình quân của Việt Nam vào khoảng 150 triệu USD. Điều này cho thấy, sản phẩm chè Việt Nam đã có chỗ đứng trên thị trường thế giới và đã có đóng góp không nhỏ vào nền kinh tế nước nhà. Tuy nhiên, sự phát triển của cây chè và các sản phẩm từ chè Việt Nam hiện nay chưa tương xứng với tiềm năng của nó. Do vậy, cần đẩy mạnh việc đầu tư nghiên cứu nâng cao chất lượng, đa dạng hóa sản phẩm chế biến, đồng thời cần nghiên cứu chiết tách các chất có hoạt tính sinh học cao (polyphenol) nhằm ổn định, phát triển sản xuất và nâng cao giá trị của cây chè Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống chè Shan được thu hái trên đồi chè thực nghiệm (Viện Khoa học kỹ thuật Nông lâm nghiệp miền núi phía Bắc, xã Phú Hộ, thị xã Phú Thọ, tỉnh Phú Thọ), theo các hướng Đông, Tây, Nam, Bắc và điem giữa của đồi chè. Nguyên liệu

sử dụng là nguyên liệu loại B có 15 % lá già và lá bánh tẻ (TCVN 2843-79).

- *Hóa chất*: 05 chất chuẩn catechin [(+)- Catechine hydrate, > 96% ; (-)- Epicatechine, ≥ 90%; (-)- Epigallocatechine, ≥ 95%; (-)- Epigallocatechingallate, ≥ 95.0% ; (-) Epicatechingallate, ≥ 98%], Gallic acid (> 98%), Caffeine (≥ 99.0%), Acetone nitrin, 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (97%), Para-anisidine, Vitamin C, Trolox được mua tại Sigma-Aldrich - Vương quốc Bỉ. Môi trường PCA (Oxoid, Singapore), Muller Hinton (Oxoid, Singapore). Các hóa chất khác (acetone, ethanol, NaOH, dichloromethane, ethyl acetate, gelatin, Na₂CO₃, H₂SO₄, HClO₄, NaOH, H₃BO₃, HCl, HPO₃, K₃Fe(CN)₆, Na₂S₂O₃, CH₃COOH, HCl, KI...) thuộc loại dùng cho phân tích có nguồn gốc từ Trung Quốc.

- *Thiết bị*: Ly tâm thường (Hermle Z400), ly tâm lạnh (Hermle Z400K), máy đo pH (Thermo, Orion), cân phân tích (Explorer, Switzeland), máy đo quang phổ tử ngoại (UVS-2800, Japan), máy xác định độ ẩm nhanh (KCRN-NRS120-3, Germany), bể ổn nhiệt (GFL, Germany), tủ sấy (Binder, Germany), vortex (Korea), tủ âm (JS-SI-200CL, JS Research), buồng cấy vô khuẩn (Airstream), máy lắc ngang (10150304E, Đức), máy cô quay chân không (R210, Thụy sĩ), máy sấy chân không, máy sấy đông khô...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

- *Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của độ ẩm nguyên liệu*

Thí nghiệm được tiến hành ở các độ ẩm của chè là 5%, 7%, 9% và 11%. Kích thước nguyên liệu là 1 - 1,5 mm, dung môi ethanol, nhiệt độ trích ly: 35°C, thời gian trích ly 1,5 giờ, trích ly 1 lần, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:10, tốc độ lắc 200 vòng/phút.

- *Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu*

Thí nghiệm được tiến hành ở các kích thước < 0,25 mm, 0,25 - 0,5 mm, 0,5 - 1 mm và 1 - 1,5 mm.

- *Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của hệ dung môi*

Thí nghiệm được tiến hành trên 5 loại dung môi hữu cơ (ethanol, acetone, methanol, acetonitrile) và nước. Nước được trích ly ở 80°C/40 phút (Row, Jin, 2006). Các dung môi hữu cơ được thử nghiệm ở 4 nồng độ 30%, 50%,

70% và 90%.

- *Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của thời gian trích ly*

Thời gian trích ly được khảo sát trong khoảng từ 0,5 - 4 giờ (bước nhảy 0,5 giờ).

- *Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi*

Thí nghiệm được tiến hành với các tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:6; 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16; 1:18; 1:20.

- *Thí nghiệm 6: Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly*

Nhiệt độ trích ly được khảo sát trong khoảng từ 35°C - 55°C (bước nhảy 10°C) và nhiệt độ sôi của dung môi.

- *Thí nghiệm 7: Ảnh hưởng của số lần trích ly*

Thí nghiệm được tiến hành với các thời gian trích ly là 1 lần, 2 lần (tỷ lệ dung môi và thời gian cho các lần trích ly - 5:5), 3 lần (tỷ lệ dung môi và thời gian cho các lần trích ly - 6:2:2) và 4 lần (tỷ lệ dung môi và thời gian cho các lần trích ly - 4:3:1,5:1,5).

2.2.2. Phương pháp phân tích

- *Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol tổng số:*

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo TCVN 9745-1-2013 (ISO 14502-1-2005) (TCVN 9745-1-2013). Một cách vắn tắt, mẫu chè khô (0,2 g) đã nghiền nhỏ (độ ẩm 5%, kích thước 0,5 - 1 mm) được cho vào ống tube 10 ml. Nâng nhiệt của ống chiết bằng cách đặt trong bể ổn nhiệt ở 70°C trong 1 phút. Sau đó, thêm 5 ml dung dịch methanol 70% đã được ổn nhiệt ở 70°C trong 30 phút. Lắc đều trên máy vortex và trích ly trong 10 phút ở 70°C. Trong quá trình trích ly, tiến hành lắc đều trên máy vortex tại các thời điểm 5 và 10 phút trích ly. Sau khi trích ly, làm nguội tự nhiên xuống nhiệt độ phòng và tiến hành ly tâm (Hermle Z400) ở 3500 vòng/phút trong 10 phút. Gạn lấy phần dịch chiết vào bình định mức 10 ml, phần bã tiếp tục đem trích ly lần 2 với trình tự như trên. Gộp dịch chiết lại và cho thêm methanol 70% đến vạch chuẩn 10 ml. Hút chính xác 1 ml dịch chiết vào bình định mức 100 ml và lên thể tích tới vạch, lắc đều thu được dịch pha loãng. Tiến hành so màu theo trình tự: Hút 1 ml dịch chiết pha loãng, thêm 5 ml thuốc thử Folin Ciocalteu 10% và lắc đều, tiếp tục thêm 4 ml dung dịch Na₂CO₃ 7,5%, lắc đều và để yên 1 giờ, sau đó tiến hành so

màu ở bước sóng 765 nm (UVS-2800, Shimadzu - Japan). Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần và lấy kết quả trung bình. Hàm lượng polyphenol tổng số theo % chất khô được tính dựa vào đường chuẩn của gallic acid trong khoảng nồng độ 10 - 50 µg/ml theo công thức:

$$W_T = \frac{(D_m - D_0) \cdot V_m \cdot d \cdot 100}{S \cdot m \cdot 10000 \cdot W_m}$$

Trong đó: $D_{sampler}$: Mật độ quang thu được của dung dịch mẫu.

$D_{intercept}$: Mật độ quang khi x bằng 0.

S_{std} : Giá trị hệ số góc (a).

m_{sample} : Khối lượng mẫu phân tích (g).

V_{sample} : Thể tích dịch chiết (ml) (10 ml).

d: Hệ số pha loãng (100).

$W_{DM, sample}$: Hàm lượng chất khô của mẫu phân tích (%).

- *Phương pháp xử lý thống kê:*

Phân tích thống kê được tiến hành dựa vào phần mềm SAS 9.1, với thủ tục phân tích ANOVA một yếu tố (one-way ANOVA), sự khác nhau giữa các trung bình được kiểm định qua chuẩn Fisher.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của độ ẩm nguyên liệu đến hiệu suất trích ly

Độ ẩm của nguyên liệu là một trong các yếu tố có ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly các hợp chất từ thực vật. Ảnh hưởng của nó thường thể hiện qua sự liên kết giữa nước với protein và các thành phần háo nước khác của vật liệu, từ đó ảnh hưởng đến sự dịch chuyển của dung môi thẩm sâu vào trong vật liệu, làm chậm quá trình khuếch tán và ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly (Lê Bạch Tuyết, 1996). Trong thí nghiệm này, chúng tôi đã thử nghiệm các mẫu chè có độ ẩm từ 5% đến 11%, các yếu tố thí nghiệm khác được cố định là: Trích ly 1 lần, kích thước nguyên liệu 1 - 1,5 mm, dung môi ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10, nhiệt độ trích ly 35°C, thời gian trích ly 1,5 giờ, tốc độ lắc 200 vòng/phút.

Bảng 1. Ảnh hưởng của độ ẩm nguyên liệu đến hiệu suất thu hồi polyphenol

Độ ẩm (%)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT(%CK)	Hiệu suất TL (%)
5	13,67	66,03 ^a
7	12,65	61,09 ^b
9	11,96	57,7 ^c
11	11,58	55,92 ^d

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ; PPT: polyphenol tổng số.

Chúng tôi nhận thấy rằng, trong khoảng độ ẩm nghiên cứu, nguyên liệu có độ ẩm càng cao thì hiệu suất thu hồi polyphenol càng thấp ($\alpha = 0,05$). Cụ thể, khi nguyên liệu có độ ẩm 7%, hiệu suất trích ly polyphenol đạt 61,09% so với hàm lượng trong nguyên liệu. Trong khi đó, ở độ ẩm 11%, hiệu suất này chỉ còn 55,92%. Điều này có thể là do ở độ ẩm cao, sự thẩm thấu dung môi vào trong vật liệu giảm, điều này ảnh hưởng đến độ phân cực của hệ dung môi - nước trong vật liệu, từ đó ảnh hưởng đến độ hòa tan các hợp chất phenol. Mặt khác trong các độ ẩm khảo sát, hiệu suất trích ly đạt cao nhất ở độ ẩm 5%. Đây cũng là độ ẩm an toàn cho quá trình bảo quản chè nguyên liệu (Nguyễn Duy Thịnh, 2004), và chúng tôi đã lựa chọn kết quả này cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hiệu suất trích ly

Cùng với độ ẩm của nguyên liệu, kích thước vật liệu cũng là yếu tố ảnh hưởng đến quá trình. Nghiên cứu vấn đề này chúng tôi thu được kết quả trong bảng 2. Chúng tôi nhận thấy rằng, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu suất trích ly polyphenol trong các khoảng kích thước nguyên liệu từ 0,25 mm đến 1 mm. Tuy nhiên, hiệu suất này đã giảm đi đáng kể khi nguyên liệu có kích thước từ 1 - 1,5 mm. Cụ thể, với kích thước của vật liệu < 1 mm, hiệu suất trích ly polyphenol đạt trong khoảng từ 67,85 - 68,74%, trong khi nó chỉ còn 65,50% khi nguyên liệu có kích thước từ 1 - 1,5 mm. Điều này có thể là do, ở kích thước lớn đã làm giảm diện tích tiếp xúc bề mặt giữa vật liệu và dung môi, từ đó làm giảm hiệu suất trích ly (Lê Bạch Tuyết, 1996). Từ kết quả này và với mục đích giảm chi phí trong việc nghiền nguyên liệu, chúng tôi chọn kích thước 0,5 - 1 mm cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hiệu suất thu hồi polyphenol

Kích thước NL (mm)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT(%CK)	Hiệu suất TL (%)
< 0,25	14,23	68,74 ^a
0,25 - 0,5	14,15	68,37 ^a
0,5 - 1	14,04	67,85^a
1 - 1,5	13,56	65,5 ^b

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số.

3.3. Ảnh hưởng của hệ dung môi đến hiệu suất trích ly

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, hệ dung môi là một trong các yếu tố quan trọng nhất trong việc trích ly polyphenol thực vật. Việc lựa chọn dung môi có thể ảnh hưởng đến cả loại và hàm lượng các hợp chất phenol chiết tách được (Liu, 2000; Nacz, 1992). Độ hòa tan của các hợp chất phenol chịu ảnh hưởng lớn bởi độ phân cực của dung môi sử dụng. Nghiên cứu vấn đề này, chúng tôi thu được kết quả ở bảng 3.

Chúng tôi nhận thấy rằng, dung môi và nồng độ dung môi có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly polyphenol chè. Thực vậy, trong các loại dung môi thử nghiệm, khả năng trích ly của nước là thấp nhất, hiệu suất của nó chỉ đạt 39,81% trong khi trích ly bằng dung môi hữu cơ, hiệu suất này thấp nhất cũng đạt 53,54% (acetonitrile 30%).

Về các dung môi hữu cơ kết quả chỉ ra rằng, trong tất cả các dung môi thử nghiệm, hiệu suất trích ly ở nồng độ 30%... đều cho hiệu suất kém nhất ($p < 0,05$). Mặt khác, với methanol, hiệu suất cao nhất cũng chỉ đạt 58,69% ở nồng độ 50%, trong khi nó lên tới khoảng 68,7% với ethanol và acetonitrile (nồng độ 70%) và hiệu suất này đạt cao nhất (70,26%) với acetone 50%. Kết quả của chúng tôi là khá phù hợp với nghiên cứu của Perva- Uzunalic và cộng sự (2006). Các tác giả chỉ ra rằng, acetone 50% cho hiệu quả trích ly cao nhất đối với các hợp chất catechin và proanthocyanidin trong chè xanh khi so sánh giữa acetone, methanol, ethanol, acetonitrile ở các nồng độ 25%, 50%, 80% và 100%. Hiệu suất trích ly catechin bằng acetone 50% cao gấp 2,7 lần so với trích ly bằng nước ở nhiệt độ sôi.

Bảng 3. Ảnh hưởng của hệ dung môi đến hiệu suất thu hồi polyphenol (%)

Nồng độ (%-v/v)	Dung môi				
	Ethanol	Methanol	Acetone	Acetonitrile	Nước
30	57,00 ^{aC}	53,67 ^{bC}	57,75 ^{aC}	53,54 ^{bC}	-
50	60,43 ^{bB}	58,69 ^{cA}	70,26^{aA}	60,55 ^{bB}	-
70	68,72 ^{aA}	54,95 ^{cB}	65,82 ^{bB}	68,68 ^{aA}	-
90	67,72 ^{aA}	54,89 ^{dB}	57,33 ^{cC}	60,32 ^{bB}	-
100	-	-	-	-	39,81

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (A, B, C) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% (theo loại dung môi). Số liệu trong cùng một hàng có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%. Nước được trích ly ở 80°C/40 phút (Row et al., 2006).

Như vậy, xét về hiệu suất trích ly, tính an toàn và khả năng rẻ tiền dễ kiếm của dung môi, chúng tôi lựa chọn acetone ở nồng độ 50% cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly

Thời gian là yếu tố không những ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến chi phí và đặc biệt là chất lượng của dịch chiết (Nacz, 2004; Perva-Uzunalic, 2006). Nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố này chúng tôi thu được kết quả trong bảng 4. Chúng tôi nhận thấy

rằng, thời gian trích ly có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất trích ly polyphenol từ chè. Thật vậy, khi tăng thời gian trích ly từ 0,5 giờ lên 2 giờ thì hiệu suất trích ly tăng đáng kể (từ 61,01% lên tới 78,69%). Tuy nhiên, nếu ta kéo dài thêm thời gian trích ly thì lại có ảnh hưởng xấu đến hàm lượng polyphenol thu được. Cụ thể, khi

thời gian trích ly tăng từ 2 giờ lên 4 giờ thì hàm lượng polyphenol đã giảm từ 16,29% CK xuống còn 15,00% CK, tương ứng với hiệu suất trích ly giảm từ 78,69% xuống 72,48%. Mặt khác, chúng tôi cũng nhận thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu suất trích ly giữa 2 giờ và 2,5 giờ ($p < 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol

Thời gian TL (giờ)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT(%CK)	Hiệu suất TL (%)
0,5	12,63	61,01 ^g
1	12,92	62,43 ^f
1,5	14,54	70,26 ^e
2	16,29	78,69^a
2,5	16,27	78,61 ^a
3	15,98	77,22 ^b
3,5	15,18	73,33 ^c
4	15,00	72,48 ^d

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số.

Labbé và cộng sự (2006) đã chỉ ra rằng, sự chiết tách EGC và EC chịu ảnh hưởng lớn vào thời gian trích ly, trong khi EGCG, ECG và C lại phụ thuộc nhiều cả vào thời gian và nhiệt độ trích ly. Bên cạnh đó, kết quả của Perva-Uzunalic và cộng sự (2006) cũng cho thấy, với dung môi nước, có sự phá hủy mạnh các catechin khi kéo dài thời gian trích ly quá 20 phút ở 80°C và quá 10 phút ở 95°C. Từ kết quả thu được, chúng tôi đã lựa chọn thời gian trích ly 2 giờ cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất trích ly

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế và quá trình tinh sạch về sau. Nghiên cứu yếu tố này, chúng tôi thu được kết quả trong bảng 5.

Kết quả chỉ ra rằng, khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1:6 đến 1:12 thì hiệu suất trích ly tăng rõ rệt (hiệu suất tăng từ 72,31% lên 81,32%). Tuy nhiên, khi tỷ lệ này tiếp tục tăng từ 1:14 đến 1:20 thì hiệu suất tăng không đáng kể (chỉ dao động từ 81,46% đến 82,80%).

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất thu hồi polyphenol

NL/DM	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT(%CK)	PPT(%CK)
1:6	14,97	72,31 ^g
1:8	15,61	75,41 ^f
1:10	16,29	78,69 ^e
1:12	16,83	81,32^d
1:14	16,86	81,46 ^{cd}
1:16	16,89	81,58 ^c
1:18	17,00	82,12 ^b
1:20	17,14	82,80 ^a

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số.

Mặt khác, kết quả phân tích thống kê cũng chỉ ra, hiệu suất trích ly giữa tỷ lệ 1:12 và 1:14 là không khác nhau có nghĩa ($p < 0,05$). Do đó, xét về yếu tố kinh tế, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi = 1:12 là phù hợp nhất và chúng tôi lựa chọn tỷ lệ này cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly

Cùng với thời gian trích ly, dung môi/nồng độ dung môi thì nhiệt độ trích ly cũng được xem là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến hiệu suất trích ly và hoạt tính sinh học của dịch chiết (Komatsu, 1993; Perva-Uzunalic, 2006). Bảng 6 thể hiện kết quả của nghiên cứu này.

Chúng tôi nhận thấy rằng, trong khoảng 35°C đến 45°C, khi tăng nhiệt độ thì hàm lượng polyphenol tổng số thu được tăng và dẫn đến hiệu suất trích ly tăng. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng thêm nữa thì hàm lượng polyphenol và hiệu suất trích ly giảm. Điều này có thể là do: Trích ly ở nhiệt độ thấp đã làm chậm quá trình chuyển khối, lượng polyphenol chiết rút được ít, vì vậy mà hiệu suất trích ly thấp. Còn nếu nhiệt độ trích ly quá cao, dung môi bị bay hơi nhiều, đồng thời có thể một phần polyphenol đã bị oxi hoá và làm giảm hiệu suất trích ly. Kết quả phân tích cho thấy, hiệu suất đạt cao nhất (83,04%) khi nhiệt độ trích ly là 45°C và đạt thấp nhất (81,11%) khi trích ly ở 35°C.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol

Nhiệt độ TL (°C)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT(%CK)	PPT(%CK)
35	16,79	81,11 ^d
45	17,19	83,04^a
55	17,02	82,22 ^b
56.2	16,89	81,61 ^c

Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d, e) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số; 56.2°C: nhiệt độ sôi của acetone.

Perva-Uzunalic và cộng sự (2006) đã chỉ ra rằng, hiệu suất chiết catechin chè với nước đã giảm khi tăng nhiệt độ chiết từ 80°C lên 95°C. Ngoài ra, Komatsu và cộng sự (1993) cũng nhận thấy, quá trình oxi hóa và epime hóa các catechin chè có

thể diễn ra ngay khi nhiệt độ trích ly vào khoảng 80°C. Như vậy, nhiệt độ trích ly thích hợp đối với hệ dung môi acetone/nước là 45°C và chúng tôi sử dụng nhiệt độ này cho nghiên cứu tiếp theo.

3.7. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến hiệu suất thu hồi

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của số lần trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol được trình bày qua bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol

Số lần trích ly (lần)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT(%CK)	PPT(%CK)
1	17,19	83,04 ^c
2	17,36	83,89 ^c
3	17,50	84,55^a
4	17,51	84,59 ^a

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số.

Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng số cũng như hiệu suất trích ly tăng đáng kể khi số lần trích ly tăng từ 1 lần đến 3 lần. Tuy

nhiên khi tăng thêm nữa (4 lần) thì hiệu suất trích ly tăng không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này có thể giải thích như sau: Trích ly là quá trình

khuyếch tán phân tử, chất cần trích ly hoà tan vào dung môi và khuyếch tán ra khỏi tế bào. Khi polyphenol đạt nồng độ cân bằng giữa trong và ngoài tế bào thì quá trình trích ly kết thúc. Chính vì vậy, nếu số lần trích ly ít thì vào cuối quá trình, sự chênh lệch gradien nồng độ của chất cần trích ly thấp, dẫn đến hiệu suất trích ly không cao. Tuy nhiên, khi số lần trích ly quá nhiều thì hiệu suất trích ly tăng không đáng kể do lượng chất cần trích ly còn lại trong nguyên liệu không nhiều. Như vậy, trích ly 3 lần là phù hợp trong chiết tách các hợp chất polyphenol chè.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, nguyên liệu được sử dụng để chiết tách polyphenol là lá chè loại B có 15% phần già, bánh tẻ của chè Shan được thu hái tại đồi chè thực nghiệm Phú Hộ - Phú Thọ. Hiệu suất trích ly ở các thông số công nghệ như sau: Độ ẩm ở 5%, kích thước nguyên liệu 0,5 - 1 mm, dung môi sử dụng trích ly là acetone ở nồng độ 50%, thời gian trích ly là 2 giờ, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:12, nhiệt độ thích hợp là 45°C, số lần trích ly là 3 lần thì sẽ đạt được hiệu quả trích ly cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R., & Hara, K. (1993). Studies on preservation of constituents in canned drinks. Effects of pH and temperature on reaction-kinetics of catechins in green tea infusion. *BioScience Biotechnology and Biochemistry*, 57(6), pp. 907-910.
2. Labbé, D., Tremblay, A. and Bazinet L. (2006). *Effect of brewing temperature and duration on green tea catechinsolubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions*. Separation and Purification Technology, 49, pp.1-9.
3. 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, pp. 3364-3371.
4. Mendel, F. (2007). *Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas*. Mol. Nutr. Food Res., 51, pp. 116-134.
5. Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A (1054)*, pp. 95-111.
6. Naczki, M., Shahidi, F. and Sullivan, A. (1992). *Recovery of rapeseed tannins by various solvent systems*. Food Chemistry, 45, pp. 51-54.
7. Perva-Uzunalic, A., Škerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F., Gruner S. (2006). *Extraction of active ingredients from green tea (Camellia sinensis): Extraction efficiency of major catechins and caffeine*, Food Chemistry, 96, pp. 597-605.
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. Nguyễn Duy Thịnh (2004). *Giáo trình công nghệ chế biến chè*. Đại học Bách Khoa Hà Nội.
10. Lê Bạch Tuyết (1996). *Quá trình trích ly, trong: Các quá trình công nghệ cơ bản trong sản xuất thực phẩm*. NXB Giáo dục, tr. 93-101.
11. Vũ Thị Thư, Lê Doãn Diên, Nguyễn Thị Gấm, Giang Trung Khoa (2001). *Các hợp chất có trong chè và một số phương pháp phân tích thông dụng trong sản xuất chè ở Việt Nam*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

INFLUENCE OF SOME TECHNOLOGICAL FACTORS ON THE EXTRACTION EFFICIENCY OF TEA LEAF POLYPHENOL

Nguyen Da Giang, Nguyen Van Luc

(Electromechanical and Food Technology Faculty, Bac Giang Agriculture and Forestry University)

SUMMARY

The benefits to human health of polyphenols (tea extract) have been clarified for a long time. Many studies have shown that tea polyphenols have beneficial effects on cancer, cardiovascular disease, obesity and have the effect in slowing down the aging process and increasing longevity. These effects are based on antioxidant, antibacterial, antifungal and antiviral properties of polyphenols. This article publishes the results of research on some technological factors affecting the efficiency of polyphenol recovery from tea leaves. The results show that: The tea leaves used to extract polyphenols is 15% of old and young tea leaves, harvested at the experimental tea hill

at the Northern Mountainous Agriculture and Forestry Science Institute, Phu Ho commune, Phu Tho town, Phu Tho province. The highest extraction efficiency at the following technological parameters: Humidity at 5%, raw material size 0.5 - 1 mm, solvent used for extraction is acetone at 50% concentration, extraction time is 2 hours, raw material/solvent ratio is 1:12, suitable temperature is 45°C, number of extractions is 3 times.

Keywords: Extraction efficiency, polyphenol, polyphenol extraction, tea polyphenol.

Người phản biện: GS.TS. Đặng Thị Thu

Ngày nhận bài: 04/9/2024

Ngày phản biện: 20/9/2024

Ngày quyết định đăng: 25/10/2024