

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC THÔNG SỐ CHIẾT XUẤT SIÊU TỚI HẠN ĐẾN CHIẾT LYCOPEN TỪ QUẢ CÀ CHUA (LYCOPERSICON ESCULENTUM MILL)

Nguyễn Trọng Điệp*, Chử Văn Mến*, Nguyễn Văn Long*,
Nguyễn Duy Bắc*, Đặng Trường Giang*

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các tham số chiết suất siêu tới hạn đến chiết xuất lycopen từ quả cà chua được nghiên cứu. Kết quả cho thấy: Tăng áp suất, nhiệt độ chiết, tốc độ dòng CO₂ và giảm kích thước tiểu phân nguyên liệu trong khoảng khảo sát làm tăng tỷ lệ sản phẩm chiết, tăng hàm lượng lycopen và hiệu suất thu hồi lycopen. Thông số chiết xuất tối ưu của quy trình là: nhiệt độ 80°C, áp suất 400 bar, tốc độ dòng CO₂ 40g/phút, kích thước tiểu phân nhỏ hơn 800 µm và thời gian chiết 180 phút.

Từ khóa: Chiết xuất siêu tới hạn, Lycopen, cà chua

SUMMARY

INFLUENCE OF SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION PARAMETERS ON THE LYCOPENE YIELD OF TOMATO

In this study, the influence of supercritical fluid extraction parameters on the lycopen yield was investigated. The results showed that: the extraction yield and lycopen content increased as the pressure, temperature, CO₂ flow rate increased and particle size decreased in the investigated ranges. The optimized parameters were: 80°C, 400 bar, 40 g/minute of CO₂, particle size was less than 800 µm and the extraction time of 180 minutes.

Keywords: Supercritical fluid extraction, Lycopen, tomato.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lycopen là một carotenoid, phân tử bao gồm 13 chuỗi nối đôi, chiếm tỷ lệ 80 - 90% trong sắc tố của quả cà chua chín. Lycopen được biết đến là một chất có tác dụng chống oxy hóa rất mạnh, cao hơn β-caroten, α-caroten và α-tocopherol. Các nghiên cứu in vitro và in vivo cho thấy, lycopen có tác dụng chống lão hóa, tăng cường hệ miễn dịch, phòng ngừa các bệnh lý tim mạch, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư, đặc biệt là ung thư đường ruột và tiền liệt tuyến. Lycopen được sử dụng trong các chế phẩm thuốc, mỹ phẩm và thực phẩm chức năng [1] [2].

Lycopen không tan trong nước, để chiết xuất lycopen từ quả cà chua có dùng các dung môi hữu cơ như acetone, benzene, chloroform, ether đầu hòa... Việc dùng dung môi hữu cơ có nhược điểm là độc hại, đắt tiền, hàm lượng hoạt chất giảm. Do vậy, ứng dụng công nghệ siêu tới hạn, dùng CO₂ làm dung môi để chiết xuất lycopen từ quả cà chua là phương pháp rất thích hợp, có thể thay thế cho phương pháp dùng dung môi hữu cơ. Phương pháp này có nhiều ưu điểm như: nhiệt độ chiết thấp, khả năng chiết xuất chọn lọc, thời gian chiết ngắn, giảm thiểu tối đa sự tiếp xúc của sản phẩm với không khí, sản phẩm thu được tinh khiết. Đặc biệt khi dùng CO₂ là dung môi sẽ không lo tồn dư trong sản phẩm, dung môi không độc hại, không gây cháy, độ nhớt dung môi thấp, khả năng khuếch tán cao [3], [7].

Từ những tác dụng sinh học quý của lycopen và ưu việt của phương pháp chiết siêu tới hạn nên những năm gần đây, chiết xuất lycopen từ quả cà chua bằng phương pháp chiết siêu tới hạn đã được nhiều tác giả nghiên cứu [3], [5] [6], [7]. Tuy nhiên, các thông số của quy trình chiết xuất và chất lượng sản phẩm giữa các nghiên cứu là khác nhau, nó phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu, thiết bị chiết xuất cụ thể. Hiện nay, ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về chiết xuất lycopen từ quả cà chua được công bố. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của các thông số chiết xuất siêu tới hạn tới quá trình chiết xuất lycopen từ quả cà chua chín nhằm đưa ra được điều kiện chiết xuất thích hợp nhất.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu:

Quả cà chua chín trồng ở Đà Lạt, thu hái vào tháng 12/2012. Nguyên liệu được thái lát, xay nhỏ, sau đó được xử lý bằng ethanol 96% chứa butylhydroxytoluen 0,01%, natri metabisulphit 0,01% và natri edetate 0,05% (Dung dịch A).

* Học viên Quân Y

Phân biệt khoa học: PGS.TS Nguyễn Minh Chính

Lọc thu phân bã. Bã được sấy ở 70°C trong 3 giờ. Bã khô được nghiền nhỏ, rây qua rây 0,8mm thu được bột quả cà chua khô. Bột quả cà chua khô có hàm ẩm 3,88% và hàm lượng lycopene là 2,59mg/g. Nguyên liệu được đóng gói kín và bảo quản ở nhiệt độ - 20°C đến khi làm thí nghiệm.

Các hóa chất: Lycopene chuẩn (Sigma) độ tinh khiết trên 90%. Methyl - tert butyl ether, methanol, nước cất đạt tiêu chuẩn cho sắc ký lỏng hiệu năng cao. Các hóa chất dichloromethan, chloroform, carbon tetrachlorid, acid phosphoric đạt tiêu chuẩn phân tích. CO₂ lỏng có độ tinh khiết 99,9%. Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

2.1.2. Thiết bị, dụng cụ:

- Thiết bị chiết xuất siêu tới hạn Thar MS2000 - Mỹ.
- Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Alliance Water 2695D.
- Cột pha đảo C₃₀ (10 mm x 250 mm, 5 μm, Develosil, Normura Chemical, Japan).
- Cân phân tích Metler độ chính xác đến 0,1mg. Bộ chiết Soxhlet.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chiết siêu tới hạn và thiết kế thí nghiệm:

Cho bột khô quả cà chua vào túi vải, nạp vào trong bình chiết. Cài đặt các thông số về nhiệt độ, áp suất, tốc độ dòng, bơm máy và thiết bị làm lạnh. Khi đạt được các thông số như cài đặt, mở van để CO₂ lỏng từ bình chứa đi qua bộ phận làm lạnh sau đó được bơm nén để tăng áp suất. CO₂ lỏng được dẫn tiếp qua thiết bị làm nóng để nâng nhiệt độ, khi đó CO₂ lỏng sẽ chuyển thành trạng thái siêu tới hạn rồi được dẫn vào bình chiết. Tại bình chiết (đã nạp nguyên liệu) được kiểm soát về nhiệt độ và áp suất để duy trì CO₂ siêu tới hạn theo đúng các điều kiện khảo sát. Chất chiết bao gồm lycopene hòa tan trong CO₂ siêu tới hạn và được chiết ra khỏi nguyên liệu, sau đó dẫn qua bộ phận giảm áp trước khi đến bình tách. Bình tách được giảm áp suất và nhiệt độ, khi đó CO₂ ở trạng thái siêu tới hạn chuyển thành trạng thái khí và mất khả năng hòa tan chất chiết. Sản

phẩm lỏng xuống dưới và được lấy ra ngoài nhờ bộ phận lấy mẫu. CO₂ ở thể khí được dẫn sang bình ngưng tụ đã được làm lạnh để chuyển thành thể lỏng và sau đó được bơm nén tuần hoàn lại hệ thống và quá trình chiết xuất tiếp tục.

Sau các khoảng thời gian 30 phút, lấy đầu vừng, cân để xác định khối lượng đầu chiết được theo thời gian. Các thí nghiệm đầu cùng điều kiện được lặp lại ba lần. Tỷ lệ sản phẩm được chiết được là được biểu thị theo tỷ lệ khối lượng sản phẩm chia cho khối lượng nguyên liệu khô kiệt. Hàm lượng lycopene trong sản phẩm được định lượng bằng HPLC. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các thông số quy trình được khảo sát, bao gồm: Nhiệt độ chiết: 50, 60, 70, 80 và 90°C; Áp suất chiết: 200, 300, 350, 400 và 450 bar; Tốc độ dòng CO₂: 25, 35, 40 và 45g/ phút; Kích thước tiểu phân nguyên liệu: 800 - 1200μm và nhỏ hơn 800μm.

Phương pháp định lượng lycopene bằng HPLC:

2.2.1. Điều kiện sắc ký: Cột Develosil C₃₀ (10 mm x 250 mm; 5 μm); pha động gồm methyl-tert butyl ether: methanol với các điều kiện rửa giải khác nhau và chúng tôi tìm được điều kiện sắc ký tối ưu gồm có chương trình chạy đẳng dòng, tỷ lệ pha động là methyl-tert butyl ether: methanol = 75:25; tốc độ dòng 1,5 ml/phút, thể tích tiêm 10 μL; detector UV bước sóng phát hiện 472,8 nm.

2.2.2. Chuẩn bị mẫu:

- Mẫu chuẩn: Dung dịch chuẩn mẹ được chuẩn bị bằng cách hòa tan Lycopene vào dung môi dichloromethan nồng độ 1 mg/ml. Các dung dịch chuẩn làm việc được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch mẹ Lycopene đến các nồng độ thích hợp.

- Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1 g mẫu thử, thêm 5 mg BHT, nghiền nhỏ, cho vào bình nón định mức 100 ml, thêm 100 ml carbon tetrachlorid, chiết siêu âm trong 30 phút ở 25°C, lọc qua màng 0,45 μm, dịch lọc được dùng để tiêm mẫu.

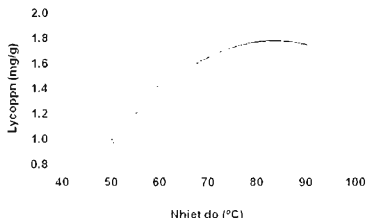
III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ:

Tiến hành chiết xuất lycopene từ bột khô quả cà chua ở cùng điều kiện: áp suất 300bar, tốc độ dòng 35g/ phút, kích thước tiểu phân nguyên liệu nhỏ hơn 800μm nhưng ở các nhiệt độ chiết lần lượt là 50, 60, 70, 80 và 90°C. Kết quả được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến chiết xuất lycopene bằng siêu tới hạn

Bột khô quả cà chua (g)	Nhiệt độ chiết	Tỷ lệ % (kl/kl) sản phẩm chiết được ở các thời gian (phút):							Lycopene / sản phẩm (mg/g)	Hiệu suất thu hồi lycopene
		30	60	90	120	150	180	Tổng		
434,1	90°C	5,11	3,27	2,47	1,10	0,52	0,22	12,68	13,75	65,75%
436,2	80°C	4,89	3,36	2,38	1,29	0,54	0,26	12,73	13,95	68,58%
432,1	70°C	4,96	3,30	2,25	1,07	0,50	0,22	12,30	13,16	62,51%
423,4	60°C	5,07	3,34	1,57	0,91	0,39	0,21	11,27	12,56	54,49%
427,5	50°C	4,01	2,65	1,02	0,50	0,23	0,08	8,49	11,46	37,57%

Hình 1. Hàm lượng lycopene (mg/g) chiết được ở các nhiệt độ khác nhau

Kết quả trên cho thấy: Nhiệt độ chiết có ảnh hưởng đến tỷ lệ sản phẩm và lycopene chiết được. Sau 180 phút, tỷ lệ sản phẩm chiết được tăng khi tăng nhiệt độ chiết, đặc biệt là trong khoảng từ 50 đến 80°C. Khi tăng nhiệt độ từ 80 lên 90°C, không làm tăng tỷ lệ sản phẩm. Tỷ lệ sản phẩm chiết được chủ yếu sau 60 phút (chiếm trên 50%) và giảm nhanh ở các thời điểm sau. Hình 1 cho thấy: hàm lượng lycopene chiết được cũng tăng theo nhiệt độ chiết, cao nhất ở 80°C

(1,78mg/g, hiệu suất thu hồi đạt 68,58%) và thấp nhất ở 50°C (0,97mg/g, hiệu suất thu hồi đạt 37,57%). Một số nghiên cứu cho thấy, tăng nhiệt độ làm tăng tỷ trọng của CO₂ siêu tới hạn nên làm tăng khả năng hòa tan của lycopene trong dung môi, làm tăng hiệu suất chiết. Tuy nhiên, nhiệt độ cao quá có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của lycopene [4], [6]. Từ khảo sát trên, chúng tôi lựa chọn nhiệt độ chiết là 80°C để khảo sát tiếp.

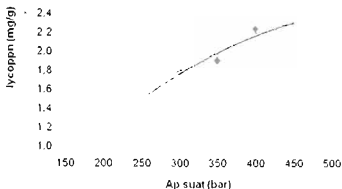
3.2. Ảnh hưởng của áp suất

Tiến hành chiết ở nhiệt độ chiết là 80°C và các thông số chiết khác tương tự như khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nhưng với các áp suất khác nhau, lần lượt là 200, 300, 350, 400 và 450 bar. Kết quả được trình bày ở bảng 2 và hình 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến chiết xuất lycopene bằng siêu tới hạn

Bột khô quả cà chua (g)	Áp suất (bar)	Tỷ lệ % (kl/kl) sản phẩm chiết được ở các thời gian (phút):							Lycopene / sản phẩm (mg/g)	Hiệu suất thu hồi lycopene
		30	60	90	120	150	180	Tổng		
435,2	200	4,19	2,43	2,10	0,98	0,39	0,15	10,25	11,55	45,69%
436,2	300	4,89	3,36	2,38	1,29	0,54	0,26	12,73	13,95	68,55%
432,7	350	5,84	3,29	2,48	1,12	0,52	0,24	13,50	14,16	73,62%
429,1	400	8,44	2,87	2,00	0,96	0,43	0,13	14,83	15,25	86,60%
427,3	450	8,60	2,92	1,96	0,95	0,40	0,17	15,00	15,15	87,74%

Hình 2. Hàm lượng lycopene (mg/g) chiết được ở các nhiệt độ khác nhau



Bảng 2 cho thấy: Tăng áp suất chiết từ 200 đến 400bar làm tăng tỷ lệ sản phẩm chiết được, nhưng khi tiếp tục tăng áp suất lên 450bar thì không làm tăng sản phẩm chiết. Ở áp suất 400 và 450bar chiết được nhiều sản phẩm nhất, đặc biệt là ở thời điểm 30 phút, sau đó giảm dần. Hàm lượng lycopene trong sản phẩm chiết ở áp suất 400 và 450bar cũng cao nhất, lần lượt là 15,25 và 15,15mg/g. Hình 2 cho thấy: hàm lượng lycopene chiết được tăng khi tăng dần áp suất và đạt mức cao nhất khi chiết ở áp suất 400 và

450bar, tương ứng với hiệu suất thu hồi là 86,60 và 87,74%. Phần lớn các nghiên cứu về chiết lycopene bằng siêu tới hạn đưa ra khoảng áp suất chiết tối ưu là 300 đến 400bar, đặc biệt là 400bar, dù chiết ở các nhiệt độ khác nhau (từ 40 đến 100°C). Một số nghiên cứu lựa chọn áp suất chiết là 300bar, nhưng hiệu suất chiết thấp hoặc muốn tăng hiệu suất thì phải kéo dài thời gian chiết (khoảng 5 giờ) [3]. Từ khảo sát trên, chúng tôi lựa chọn áp suất chiết là 400bar để khảo sát tiếp.

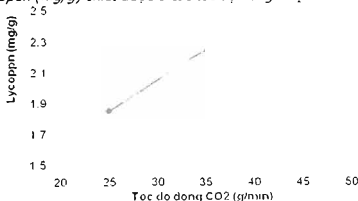
3.3. Ảnh hưởng của tốc độ dòng CO₂:

Sau khi khảo sát lựa chọn được nhiệt độ và áp suất chiết, tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của tốc độ dòng CO₂ ở các mức là 25, 35, 40 và 45g/phút. Kết quả được trình bày ở bảng 3 và hình 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến chiết xuất lycopene bằng siêu tới hạn

Bột khô quả cà chua (g)	Dòng CO ₂ (g/min)	Tỷ lệ % (kl/kl) sản phẩm chiết được ở các thời gian (phút):							Lycopene/sản phẩm (mg/g)	Hiệu suất thu hồi lycopene
		30	60	90	120	150	180	Tổng		
428,5	25	6,43	2,39	1,75	1,09	0,74	0,55	12,40	14,89	71,31%
429,1	35	8,44	2,87	2,00	0,96	0,43	0,13	14,83	15,25	86,60%
440,3	40	8,66	2,92	2,06	0,99	0,30	0,16	15,10	15,48	90,24%
435,8	45	8,93	3,11	1,98	0,89	0,20	0,07	15,18	15,36	90,05%

Hình 3. Hàm lượng lycopene (mg/g) chiết được ở các tốc độ dòng CO₂ khác nhau



Thông số tốc độ dòng CO₂ có thể ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất siêu tới hạn, nó phụ thuộc vào từng thiết bị cụ thể. Kết quả khảo sát

cho thấy: Khi tăng tốc độ dòng từ 25 đến 35g/phút đã làm tăng đáng kể sản phẩm chiết được. Nhưng khi tốc độ dòng tăng từ 35 đến

45g/phút thì tỷ lệ sản phẩm chiết được tăng lên không đáng kể. Thông thường, khi tăng tốc độ dòng làm tăng lưu lượng khuếch tán của dung môi qua các lớp nguyên liệu nên tăng hiệu suất chiết. Tuy nhiên, tốc độ dòng cao quá có thể làm giảm quá trình chiết xuất do quá trình chiết xuất còn phụ thuộc vào khuếch tán phân tử và khuếch tán nội diễn ra ở trong nguyên liệu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tốc độ dòng trong khoảng từ 25 đến 45g/phút. Vì mức tối thiểu về tốc độ dòng cài đặt cho thiết bị là 20g/phút và

nếu tốc độ dòng lớn hơn 50g/ phút sẽ không an toàn đối với quá trình hoạt động của thiết bị. Kết quả trên cũng cho thấy: hàm lượng và hiệu suất thu hồi lycopene cũng tăng theo sự gia tăng của tốc độ dòng. Với tốc độ dòng là 40g/phút thì hiệu suất này gần như đạt mức cao nhất (90,24%), khi tiếp tục tăng lên 45g/phút cũng không làm tăng hiệu suất thu hồi lycopene (90,05%). Từ khảo sát trên, chúng tôi lựa chọn tốc độ dòng CO₂ là 40g/phút.

3.4. Ảnh hưởng của kích thước tiểu phân nguyên liệu:

Sau khi khảo sát lựa chọn được các điều kiện về nhiệt độ, áp suất chiết và tốc độ dòng CO₂, chúng tôi tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của kích thước tiểu phân (KTTP) với nguyên liệu có kích thước là: 800 - 1000 μ m và 315 - 800 μ m. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của kích thước tiểu phân nguyên liệu đến chiết xuất lycopene từ quả cà chua

Bột khô quả cà chua (g)	KTTP	Tỷ lệ % (kl/kl) sản phẩm chiết được ở các thời gian (phút):							Lycopene / sản phẩm (mg/g)	Hiệu suất thu hồi lycopene
		30	60	90	120	150	180	Tổng		
438,1	800-1200 μ m	5,54	2,23	1,71	1,22	0,70	0,58	11,97	13,45	62,18%
440,3	< 800 μ m	8,66	2,92	2,06	0,99	0,30	0,16	15,10	15,48	90,24%

Kết quả trên cho thấy: Giảm KTTP làm tăng tỷ lệ sản phẩm chiết và hàm lượng lycopene trong sản phẩm. KTTP nguyên liệu nhỏ hơn 800 μ m, sản phẩm chiết được chủ yếu ở các thời điểm ban đầu, sau đó giảm mạnh ở các thời điểm sau. Ngược lại, với KTTP nguyên liệu từ 800 - 1200 μ m, sau 180 phút chỉ chiết được 11,97%, tương đương với tỷ lệ sản phẩm chiết được sau 60 phút (11,59%) đối với KTTP nguyên liệu nhỏ hơn 800 μ m. Giảm KTTP làm tăng tổng diện tích tiếp xúc giữa tiểu phân với dung môi và giảm bề dày lớp khuếch tán nên làm tăng hiệu suất chiết. Hiệu suất thu hồi lycopene ở nguyên liệu có KTTP nhỏ hơn 800 μ m là 90,24%, trong khi nguyên liệu có KTTP lớn hơn 800 μ m chỉ đạt 62,18%. Hàm lượng lycopene chiết được theo quy trình trên là 15,48mg/g, tương ứng với 1,55% trong sản phẩm chiết. Ngoài lycopene, sản phẩm chiết còn chứa các thành phần thân dầu khác như: acid béo, acylglycerol, phospholipid, sáp,... Từ kết quả khảo sát chúng tôi lựa chọn nguyên liệu có 800 μ m nhỏ hơn 800 μ m để chiết xuất lycopene từ quả cà chua.

IV. KẾT LUẬN

Các thông số chiết xuất siêu tới hạn có ảnh hưởng rõ rệt đến chiết xuất lycopene từ quả cà chua. Tăng áp suất, nhiệt độ chiết, tốc độ dòng CO₂ và giảm kích thước tiểu phân nguyên liệu trong khoảng khảo sát làm tăng tỷ lệ chiết sản phẩm, tăng hàm lượng và hiệu suất thu hồi

lycopene. Thông số chiết xuất tối ưu của quy trình là: nhiệt độ 80°C, áp suất 400 bar, tốc độ dòng CO₂ 40g/phút, kích thước tiểu phân nhỏ hơn 800 μ m và thời gian chiết là 180 phút. Sản phẩm chiết chứa lycopene với hàm lượng 15,48mg/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Victor R. Preedy, "Lycopene: Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties", Science Publishers, 2008.
2. Victor R. Preedy and Ronald R. Watson, "Tomato Products: Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties", Science Publishers, 2008.
3. M.H. Zuknik et al. *Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene: A review*. Journal of Food Engineering 112 (2012) 253-262.
4. C. Yi et al. *Effects of supercritical fluid extraction parameters on lycopene yield and antioxidant activity*. Food Chemistry 113 (2009) 1088-1094.
5. W. Huang et al. *Optimization of operating parameters for supercritical carbon dioxide extraction of lycopene by response surface methodology*. Journal of Food Engineering 89 (2008) 298-302.
6. L.S. Kassama et al. *Optimization of supercritical fluid extraction of lycopene from tomato skin with central composite rotatable design model*. Separation and Purification Technology 60 (2008) 278-284.
7. G. Vasapollo et al. *Innovative supercritical CO₂ extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent*. Journal of Supercritical Fluids 29 (2004) 87-96.