

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY CÓ HỖ TRỢ VI SÓNG POLYPHENOL TỪ VỎ LỤA HẠT ĐIỀU

**Mạc Xuân Hòa*, Nguyễn Thị Thảo Minh,
Nguyễn Thị Minh Châu, Nguyễn Thị Phương Trang,
Lê Thị Mến, Lê Nguyễn Trà My, Trần Thị Thanh Ngọc**
Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: hoamx@cntp.edu.vn

Ngày nhận bài: 22/6/2018; Ngày chấp nhận đăng: 30/8/2018

TÓM TẮT

Các hợp chất polyphenol trong vỏ lụa hạt điều được thu nhận bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ vi sóng (Microwave-assisted extraction - MAE). Mục tiêu của nghiên cứu là xác định điều kiện tối ưu của quá trình trích ly. Điều kiện trích ly bao gồm 2 yếu tố được khảo sát bằng thực nghiệm là công suất vi sóng (W) và thời gian xử lý vi sóng (giây), các yếu tố khác được cố định dựa trên kết quả của các khảo sát trước đó. Hàm mục tiêu là hàm lượng polyphenol tổng (TPC, mg GAE/g chất khô). Phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology - RSM) với mô hình quay bậc 2 có tâm (Central composite design - CCD) được sử dụng để thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa. Kết quả thực nghiệm cho thấy mối quan hệ giữa hàm mục tiêu và điều kiện trích ly tương thích với một mô hình thực nghiệm bậc 2 với R^2 bằng 0,977. Trong đó, cả hai yếu tố nghiên cứu đều ảnh hưởng có nghĩa ($p < 0,05$) lên hàm mục tiêu; ngoài ra, hàm mục tiêu còn chịu tác động ý nghĩa bởi sự tương tác giữa hai yếu tố này. Điều kiện tối ưu được dự đoán từ mô hình thực nghiệm; theo đó, TPC đạt cực đại (193,83 mg GAE/g chất khô) tại công suất 540 W, thời gian 84 giây. Giá trị hàm mục tiêu ở điều kiện tối ưu sau đó được xác minh lại bằng thực nghiệm với 20 nhóm mẫu; không có sự khác biệt ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa giá trị dự đoán ở trên và giá trị thực nghiệm (194,99 mg GAE/g chất khô). Khả năng bắt gốc tự do DPPH của mẫu dịch chiết tối ưu (IC50) bằng 88,68 $\mu\text{g/mL}$, thấp hơn 6,69 lần so với vitamin C (12,93 $\mu\text{g/mL}$).

Từ khóa: Trích ly có hỗ trợ vi sóng, hợp chất polyphenol, vỏ lụa hạt điều, khả năng bắt gốc tự do DPPH.

1. MỞ ĐẦU

Vỏ lụa hạt điều (*Anacardim occidentale* Linn) là một lớp vỏ mỏng màu đỏ nâu, bao phủ bên ngoài nhân hạt điều, chiếm 1-3% tổng trọng lượng hạt điều [1]. Trong quá trình sản xuất nhân hạt điều, lượng phụ phẩm vỏ lụa được tạo ra khá lớn, ước tính khoảng 80 kg hạt thô sẽ thu được 1 kg vỏ lụa [2]. Hiện tại, loại phụ phẩm này được sử dụng một phần làm thức ăn gia súc hoặc làm nhiên liệu đốt để duy trì hoạt động nồi hơi [3].

Kết quả của nhiều nghiên cứu cho thấy, vỏ lụa hạt điều là nguồn nguyên liệu giàu các hợp chất polyphenol với TPC nhiều hơn cả trà xanh và socola đen [4, 5]. Cụ thể, hàm lượng (+)-catechin và (-)-epicatechin trong vỏ lụa điều cao gấp 20 lần và 5 lần so với các hợp chất polyphenol trong socola đen [5]. Ngoài ra, trong vỏ lụa điều còn nổi bật các nhóm terpene, flavonoid, terpenoid, tanin và sterol [1]. Đây là các hợp chất chính tạo ra hoạt tính sinh học, cụ thể là khả năng chống oxy hóa, chống viêm, chống dị ứng và khả năng kháng khuẩn [6-9].

Do đó, việc nghiên cứu tận dụng phụ phẩm vỏ lụa điều, nguồn nguyên liệu rẻ tiền với số lượng lớn, để trích các hợp chất polyphenol là một hướng đi đầy tiềm năng.

Trích ly là một bước quan trọng trong thu nhận các hợp chất polyphenol. Có nhiều phương pháp trích ly đã được các nhà nghiên cứu áp dụng như: trích ly truyền thống, trích ly hỗ trợ vi sóng, trích ly hỗ trợ siêu âm, trích ly siêu tới hạn. Trong sản xuất quy mô nhỏ, trích ly hỗ trợ vi sóng (Microwave-assisted extraction - MAE) là phương pháp đã được chứng minh giúp giảm thời gian và tiết kiệm năng lượng. Nghiên cứu của Wang *et al.* (2010) về trích ly polyphenol có MAE từ trà xanh chỉ ra rằng, phương pháp trích ly hỗ trợ vi sóng khi so với phương pháp truyền thống giúp tiết kiệm thời gian gấp 8 lần, hàm lượng polyphenol tổng tăng 17,5%, mức công suất chỉ bằng 1/4 lần và thời gian giảm 2 lần khi so với trích ly hỗ trợ siêu âm [10].

Vi sóng là một sóng điện từ có tần số từ 0,3 GHz đến 300 GHz, dạng sóng này có thể tạo chuyển động phân tử trong nguyên liệu dựa vào tương tác ion và tương tác lưỡng cực [11]. Các phân tử phân cực, ví dụ như nước và các hợp chất polyphenol hấp thụ mạnh năng lượng vi sóng, nhanh chóng tạo nhiệt dẫn đến thời gian trích ly ngắn hơn. Ngoài ra, do các hợp chất hóa học khác nhau hấp thụ vi sóng ở các mức độ khác nhau nên MAE trở thành phương pháp hiệu quả để trích ly có chọn lọc các hợp chất mục tiêu trong những loại thực phẩm phức tạp [12, 13].

Trích ly polyphenol có hỗ trợ vi sóng từ vỏ lụa điều là hướng nghiên cứu đầy tiềm năng, nhưng ở Việt Nam có rất ít các nghiên cứu liên quan được tiến hành. Các phương pháp trước đây thường sử dụng là phương pháp truyền thống (ngâm chiết rắn lỏng trong dung môi hữu cơ) với thời gian trích ly dài [14] và tiềm ẩn nguy cơ gây ô nhiễm môi trường do sự rò rỉ hơi dung môi [15]. Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm tối ưu hóa quá trình trích ly các hợp chất phenolic có hỗ trợ vi sóng từ vỏ lụa hạt điều bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (Response surface methodology - RSM) với dung môi trích ly là nước; loại dung môi này sẽ giúp giảm thiểu nguy cơ gây ô nhiễm môi trường [16].

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Hóa chất: Acid gallic, Na₂CO₃, vitamin C có xuất xứ Trung Quốc, độ tinh khiết trên 99%, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) xuất xứ Anh, độ tinh khiết 99,8%, thuốc thử Folin-Ciocalteu xuất xứ Đức và ethanol 99,5% xuất xứ Việt Nam.

Nguyên liệu: Vỏ lụa hạt điều thu mua từ dây chuyền sản xuất nhân hạt điều tại Công ty TNHH MTV Thanh Minh Ngọc, thị xã Phước Long, tỉnh Bình Phước. Nguyên liệu có độ ẩm 7,21%.

2.2. Chuẩn bị nguyên liệu

Vỏ lụa hạt điều sau khi thu mua được sàng loại bỏ tạp chất (tạp chất gồm: vỏ cứng, phần nhân hạt điều còn sót, cành khô, bụi đất cát...). Nghiền nhỏ nguyên liệu bằng máy xay khô (Gao Shu Fen Sui Ji, Trung Quốc), sau đó rây qua rây có kích thước lỗ 1 mm và 0,5 mm, giữ lại phần nguyên liệu có kích thước 0,5-1 mm. Đồng nhất mẫu rồi tiến hành chia đều vào các túi PA (Polyamide) với khối lượng 50 ± 1 g dùng cho một ngày thí nghiệm. Các túi PA chứa mẫu được hàn ghép mí hút chân không và bảo quản ở nhiệt độ phòng trong tủ tối.

2.3. Phương pháp tiến hành trích ly hỗ trợ vi sóng

Nguyên liệu được đưa vào trích ly là vỏ lụa điều đã qua xử lý theo mục 2.2. Theo đó, mỗi mẻ trích ly có khối lượng mẫu chính xác $1 \pm 0,01$ g trộn với 50 mL dung môi (nước cất) trong cốc thủy tinh 250 mL (tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/50 (w/v) dựa trên kết quả khảo

sát sơ bộ). Hỗn hợp được trích ly theo kế hoạch thực nghiệm ở mục 2.4.1 tại mức công suất và thời gian khác nhau. Phần dịch sau quá trình trích ly được lọc thô qua lớp vải trắng và lọc tinh qua giấy lọc 0,05 mm (Whatman số 04). Hiệu quả của quá trình trích ly được đánh giá qua hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g chất khô).

2.4. Phương pháp thiết kế thí nghiệm

2.4.1. Khảo sát sơ bộ các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly hỗ trợ vi sóng

Mục đích của thí nghiệm này là tìm ra khoảng biên thiên thích hợp của các thông số vi sóng bằng phương pháp thực nghiệm một yếu tố ở một thời gian (One factor at a time). Cụ thể, các yếu tố được lần lượt khảo sát độc lập, khi một yếu tố được khảo sát thì các yếu tố còn lại sẽ được cố định ở một mức được lựa chọn. Trong phần này, công suất vi sóng được khảo sát ở các mức 120, 230, 385, 540, 700 W (với thời gian xử lý giữ cố định 5 giây) và thời gian vi sóng được khảo sát ở các mức 40 giây, 60 giây, 80 giây và 100 giây (mức công suất cố định lấy từ kết quả khảo sát trước). Phương pháp phân tích phương sai một chiều (one-way ANOVA) và LSD (Least significant difference) được sử dụng để so sánh hiệu quả giữa các mức yếu tố với $\alpha = 0,05$.

2.4.2. Thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa

Mục đích của thí nghiệm này là xác định điều kiện vi sóng để hiệu quả trích ly cao nhất. Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với phương án quay bậc 2 có tâm (Central composite design - CCD) được áp dụng để tối ưu hóa điều kiện của quá trình trích ly. Khoảng biên thiên của các biến được xác định dựa trên kết quả khảo sát trước đó. Hàm mục tiêu đại diện cho hiệu quả trích ly là hàm lượng polyphenol tổng trong dịch lọc. Mối quan hệ giữa các biến và hàm mục tiêu là phương trình hồi quy đa biến có dạng tổng quát như sau:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

Trong đó, Y là hàm mục tiêu, X_i và X_j là các mức của biến đại diện cho ảnh hưởng của biến lên hàm mục tiêu. β_0 là hằng số, β_i , β_{ii} và β_{ij} là các hệ số của phương trình hồi quy.

Các hệ số của phương trình hồi quy thực nghiệm được ước lượng bằng phương pháp bình phương cực tiểu; tính tương thích chung của mô hình được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA; $\alpha = 0,05$); ý nghĩa của các hệ số được kiểm tra bằng kiểm định Student ($\alpha = 0,05$).

Điều kiện tối ưu được dự đoán và xác minh lại bằng thực nghiệm.

Phần mềm quy hoạch thực nghiệm và xử lý thống kê được sử dụng là JMP 10.0.

2.4.3. Thí nghiệm xác minh điều kiện tối ưu

Quá trình trích ly các hợp chất phenolic được tiến hành lặp lại trên 20 mẫu ở điều kiện tối ưu. Ở mỗi thí nghiệm hàm lượng polyphenol tổng (TPC) được đo lường. Kết quả thực nghiệm được biểu diễn trên biểu đồ Shewhart để phân tích tính ổn định của quá trình. Trong đó, các giới hạn kiểm soát được tính toán theo giá trị trung bình (\bar{X}) và độ lệch chuẩn (SD) như sau: $LCL = \bar{X} - 3SD$; $UCL = \bar{X} + 3SD$. Kiểm định Student ($\alpha = 0,05$) được sử dụng để kiểm tra sự khác biệt ý nghĩa giữa giá trị tối ưu dự đoán và giá trị tối ưu xác định bằng thực nghiệm.

Ngoài ra, để so sánh hiệu quả trích ly với phương pháp truyền thống, TPC trung bình của 20 mẫu trích ly ở trên còn được so sánh với mẫu trích ly theo phương pháp truyền thống (trích ly ở cùng thời gian với mẫu tối ưu nhưng không hỗ trợ vi sóng).

Khả năng kháng oxy hóa của mẫu tối ưu được xác định theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH.

2.5. Phương pháp phân tích

2.5.1. Xác định hàm lượng polyphenol tổng (TPC)

Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch trích ly được xác định theo phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu với một số sửa đổi theo Singleton *et al.* (1965) [17]. Thuốc thử Folin-Ciocalteu (0,5 mL) được thêm vào các bình định mức đã chứa 1 mL dịch chiết pha loãng. Hỗn hợp được trộn đều và để yên trong 3-8 phút, dung dịch bão hòa Na_2CO_3 (2,5 mL) được thêm vào mỗi bình để trung hòa phản ứng. Thể tích được điều chỉnh đến 10 mL bằng nước cất, rồi lắc mạnh trộn đều dung dịch. Các bình được để trong tối 30 phút ở nhiệt độ môi trường, sau đó đọc độ hấp thụ của lớp dịch màu xanh ở bước sóng 760 nm, sử dụng mẫu trắng thích hợp. Hàm lượng polyphenol tổng trong dịch trích ly được xác định bằng đường chuẩn axit gallic, thể hiện bằng miligam đương lượng acid gallic (GAE) trên mỗi gram chất khô nguyên liệu.

2.5.2. Khả năng bắt gốc tự do DPPH

Về nguyên tắc, các chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng nhạt dần, chuyển từ màu tím sang màu vàng nhạt. Giá trị mật độ quang OD càng thấp chứng tỏ khả năng bắt gốc tự do DPPH càng cao [18].

Khả năng bắt gốc tự do DPPH được xác định theo phương pháp của Fu *et al.* (2002) với một vài hiệu chỉnh nhỏ [19]. Dung dịch sau trích ly được pha thành các nồng độ 40, 80, 120, 160 và 200 $\mu\text{g/mL}$ trong nước cất. 5 mL DPPH (0,8 mM, pha trong ethanol) được thêm vào mỗi ống nghiệm đã chứa 1 mL dịch chiết tại các nồng độ khác nhau. Hỗn hợp được lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm. Chứng dương trong thí nghiệm là acid ascorbic (25 $\mu\text{g/mL}$), chứng âm là nước cất hai lần. Tỷ lệ phần trăm hoạt tính kháng oxy hóa được xác định theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100$$

Trong đó: OD_m là giá trị mật độ quang OD của mẫu thử; OD_c là giá trị mật độ quang OD của chứng âm. Kết quả báo cáo bởi giá trị IC_{50} là nồng độ dịch chiết khử được 50% gốc tự do DPPH ở điều kiện xác định. Giá trị IC_{50} càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

2.6. Phương pháp xử lý thống kê

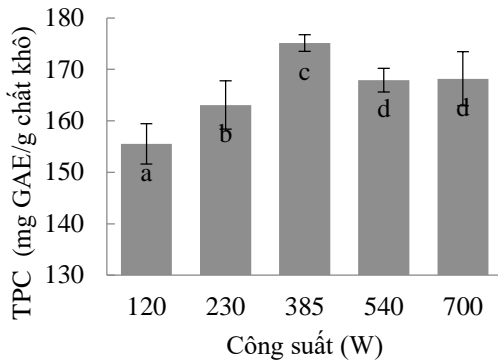
Phần mềm quy hoạch thực nghiệm và xử lý thống kê được sử dụng là JMP 10.0, SPSS ver. 22 và MS Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

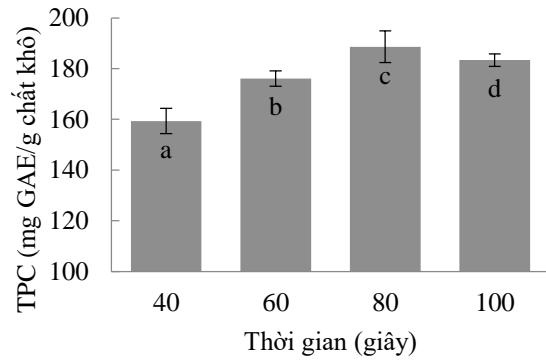
3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly hỗ trợ vi sóng

3.1.1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng

5 mức công suất (120, 230, 385, 540 và 700 W) được khảo sát với thời gian cố định 5 giây. Kết quả khảo sát cho thấy hiệu quả thu nhận cao nhất ở mức công suất 385 W. Theo đó, hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết tăng dần từ 156,76 mg GAE/g chất khô lên 172,27 mg GAE/g chất khô khi công suất tăng từ 120 W đến 385 W; ở mức năng lượng cao hơn (540 và 700 W) hiệu quả trích ly có xu hướng giảm (Hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của công suất vi sóng



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý vi sóng

Dữ liệu được trình bày dưới dạng $\bar{x} \pm SD$. Các mức tỷ lệ được đánh dấu bằng các ký tự khác nhau (a – d) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Cụ thể, hàm lượng polyphenol tổng tăng có nghĩa ($p < 0,05$) khi công suất thay đổi từ 120 W lên 385 W; ở các mức cao hơn (540 W và 700 W) hàm lượng polyphenol tổng giảm có ý nghĩa ($p < 0,05$, kiểm định LSD). Nhiệt độ thấp ở mức công suất nhỏ làm giảm tốc độ khuếch tán phân tử có thể là nguyên nhân làm hiệu quả trích ly thấp hơn ở mức 120 W và 230 W (nhiệt độ tương ứng 35 °C và 38 °C); còn ở các mức công suất 540 W và 700 W (nhiệt độ tương ứng 48 °C và 50 °C), tuy tốc độ khuếch tán tăng nhưng sự phân hủy bởi nhiệt và vi sóng lại làm giảm hàm lượng polyphenol tổng. Kết quả này đồng nhất với kết quả nghiên cứu trích ly polyphenol hỗ trợ vi sóng từ hạt lựu của Donglian Su *et al.* (2017) [20] và từ trà của Liyun Wang *et al.* (2010) [10].

Như vậy, mức công suất 385 W là điểm dừng của yếu tố công suất khi cho hiệu quả trích ly tối đa ở thí nghiệm này.

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý vi sóng

Thời gian vi sóng có ảnh hưởng ý nghĩa ($p < 0,05$) lên hiệu quả thu nhận polyphenol khi trích ly. Sự thay đổi của hiệu quả thu nhận theo thời gian được khảo sát ở 4 mức (40, 60, 80 và 100 giây) với công suất cố định 385 W.

Kết quả Hình 2 chỉ ra rằng hàm lượng polyphenol tổng tăng nhanh khi thời gian thay đổi từ 40 giây đến 80 giây (nhiệt độ tại tâm dịch chiết tương ứng 45 °C, 50 °C, 60 °C); sau 80 giây hàm lượng polyphenol có xu hướng giảm, khác biệt có nghĩa ($p < 0,05$). Hiệu quả trích ly cao nhất là 187,37 mg GAE/g chất khô ở thời gian 80 giây. Theo đó, hiệu quả của sự kéo dài thời gian chỉ thể hiện trong một khoảng thời gian nhất định, vượt qua khoảng này thì hiệu quả giảm dần. Nguyên nhân dẫn đến điều này có thể do các hợp chất polyphenol bị oxy hóa và chịu ảnh hưởng của bức xạ nhiệt vi sóng theo thời gian (ở mức 100 giây, nhiệt độ tại tâm dịch chiết lên đến 70 °C). Quy luật này đồng nhất với kết quả nghiên cứu của Liyun Wang *et al.* (2010) trong nghiên cứu trích ly polyphenol hỗ trợ vi sóng từ trà [10].

Như vậy, mức thời gian 80 giây cho hiệu quả trích ly tốt nhất.

3.2. Tối ưu của quá trình trích ly có hỗ trợ vi sóng (MAE)

3.2.1. Mô hình hóa thí nghiệm tối ưu

Ở nội dung nghiên cứu này 2 thông số được chọn để tiến hành tối ưu hóa là thời gian và công suất vi sóng. Khoảng biến thiên của các yếu tố được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Các mức của yếu tố thí nghiệm tối ưu hóa quá trình trích ly có vi sóng

Thông số	Mức thấp	Mức tâm	Mức cao
Công suất (X_1)	230 W	385 W	540 W
Thời gian (X_2)	70 giây	80 giây	90 giây

Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) với phương án quay bậc 2 có tâm (cánh tay đòn $\alpha = 1,414$) được áp dụng để tối ưu hóa các điều kiện của quá trình trích ly hỗ trợ vi sóng. Theo đó, quy hoạch thực nghiệm gồm 17 thí nghiệm với 4 thí nghiệm ở nhân phương án, 4 thí nghiệm ở điểm sao và 9 thí nghiệm ở tâm. Kết quả thí nghiệm tối ưu hóa được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm tối ưu hóa quá trình trích ly hỗ trợ vi sóng

Thí nghiệm	Biến		Hàm mục tiêu	
	X_1	X_2	$Y_{\text{thực nghiệm}}$	$Y_{\text{dự đoán}}$
1	230	70	162,35	163,73
2	230	90	165,46	163,49
3	540	70	182,29	183,96
4	540	90	193,90	192,21
5	166	80	160,29	160,65
6	604	80	195,31	195,26
7	385	66	173,13	170,91
8	385	94	174,04	176,57
9	385	80	184,92	183,47
10	385	80	184,52	183,47
11	385	80	185,33	183,47
12	385	80	183,29	183,47
13	385	80	183,70	183,47
14	385	80	182,88	183,47
15	385	80	182,47	183,47
16	385	80	182,06	183,47
17	385	80	182,06	183,47

- X_1 : công suất vi sóng (W); X_2 : thời gian vi sóng (giây)
 - $Y_{\text{thực nghiệm}}$: hàm lượng polyphenol tổng xác định trên thực nghiệm (mg GAE/g chất khô)
 - $Y_{\text{dự đoán}}$: hàm lượng polyphenol tổng tính toán từ phương trình hồi quy (mg GAE/g chất khô)

3.2.2. Xác định điều kiện tối ưu

Bảng 3 trình bày kết quả phân tích phương sai với trị số $p < 0,05$ (kiểm định Fisher). Xét một cách tổng quát, mô hình hồi quy tương thích với thực nghiệm. Với giá trị $R^2 = 0,977$, mô hình này có thể giải thích được 97,7% mối quan hệ của các biến với hàm mục tiêu.

Bảng 3. Phân tích phương sai cho mô hình hồi quy (ANOVA)

Nguồn biến thiên	Bậc tự do df	Tổng bình phương SS	Trung bình bình phương MS	F	p
Yếu tố	5	1512,21	302,44	95,10	< 0,0001
Sai số	11	34,98	3,18		
Tổng cộng	16	1547,19			

Kết quả ước lượng và kiểm định các hệ số được thể hiện ở Bảng 4. Cụ thể, tất cả các hệ số đều khác 0 với $p < 0,05$ (kiểm định Student). Như vậy, phương trình hồi quy có thể được viết như sau:

$$\text{Hàm lượng polyphenol tổng} = 183,47 + 12,24X_1 + 2,00X_2 + 2,12X_1X_2 - 2,76X_1^2 - 4,87X_2^2$$

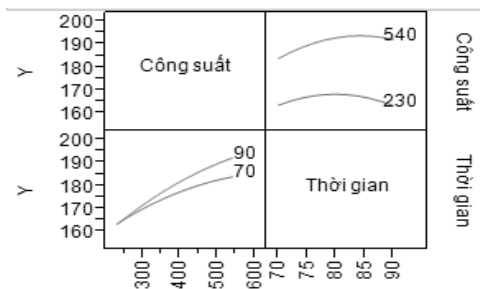
(mg GEA/g chất khô)

(Trong đó: X_1, X_2 lần lượt là công suất và thời gian vi sóng)

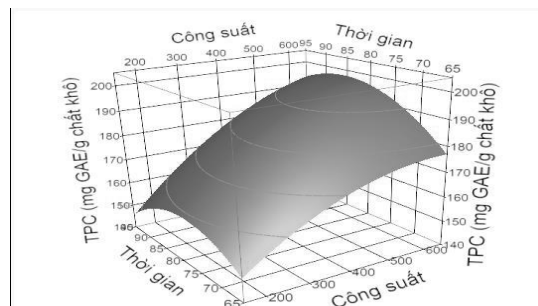
Bảng 4. Kiểm tra ý nghĩa các hệ số của phương trình hồi quy

Số hạng	Giá trị ước lượng	Sai số chuẩn	t	p
Hệ số chặn	183,47	0,59	308,64	< 0,0001
X_1	12,24	0,63	4,64	< 0,0001
X_2	2,00	0,63	3,17	0,0089
$X_1 * X_2$	2,12	0,89	2,38	0,0364
$X_1 * X_1$	-2,76	0,62	-4,44	< 0,0010
$X_2 * X_2$	-4,87	0,62	-7,83	< 0,0001

Mối quan hệ giữa điều kiện trích ly với hàm lượng polyphenol tổng được mô tả ở Hình 4. Dựa vào phương trình hồi quy có thể thấy rằng công suất vi sóng (X_1) ảnh hưởng mạnh hơn thời gian vi sóng (X_2) lên hàm lượng polyphenol thu nhận được. Ngoài ra, có tồn tại ý nghĩa hiệu ứng tương tác giữa 2 yếu tố này. Hiệu ứng này được mô tả ở Hình 3. Theo đó, ảnh hưởng của thời gian lên hàm lượng polyphenol tổng có xu hướng không giống nhau ở các mức công suất khác nhau; cụ thể, công suất càng cao thì thời gian để hàm lượng polyphenol tổng đạt cao nhất càng ngắn. Hàm lượng polyphenol tổng đạt cực đại trong khoảng thời gian 84 giây ở công suất 540 W; còn ở 385 W thì cần đến 90 giây.



Hình 3. Tương tác giữa công suất và thời gian vi sóng



Hình 4. Bề mặt đáp ứng thể hiện mối quan hệ giữa điều kiện trích ly và hàm lượng polyphenol tổng

3.2.3. Xác minh điều kiện tối ưu

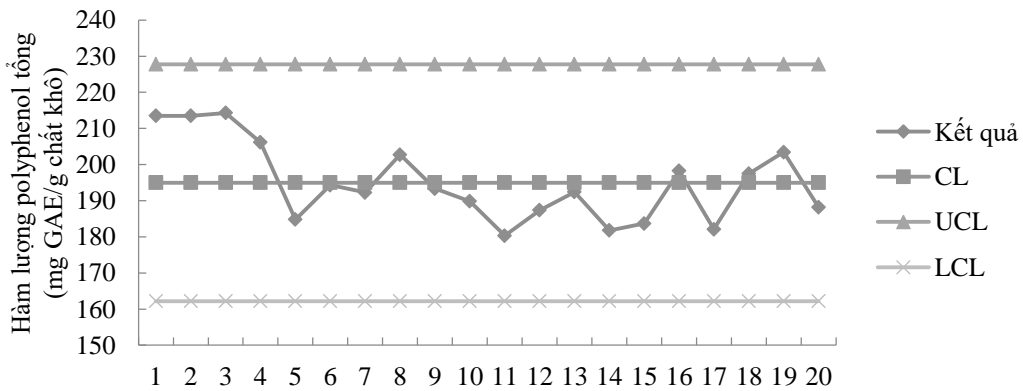
Với sự hỗ trợ của phần mềm JMP 10, điều kiện tối ưu được xác định như sau: công suất 540 W và thời gian 84 giây. Ở điều kiện này, hàm lượng polyphenol tổng dự đoán thu nhận được bằng 193,83 mg GAE/g chất khô.

Thí nghiệm xác minh được thực hiện ở điều kiện tối ưu trên, từ số liệu thực nghiệm, các giới hạn kiểm soát được tính toán như ở Bảng 5. Kết quả cho thấy, ở điều kiện tối ưu của quá trình trích ly hỗ trợ vi sóng, hàm lượng polyphenol tổng (CL - Center line) bằng 194,99 mg GAE/g chất khô.

Bảng 5. Kết quả tính toán các giới hạn kiểm soát

Tham số	Giá trị
Giá trị trung bình (CL)	194,99
Độ lệch chuẩn (SD)	10,93
Giới hạn kiểm soát dưới (LCL)	162,21
Giới hạn kiểm soát trên (UCL)	227,76

Tính ổn định của quá trình được thể hiện qua biểu đồ kiểm soát. Phân tích biểu đồ (Hình 5) cho thấy không có giá trị nào vượt ra ngoài giới hạn kiểm soát, hoạt động của quá trình là ổn định.



Hình 5. Biểu đồ kiểm soát mô hình thực nghiệm

Kết quả thực nghiệm cho thấy hàm lượng polyphenol tổng trung bình bằng 194,99 mg GAE/g chất khô (n = 3), khi kiểm tra bằng kiểm định Student cho thấy không có sự khác biệt ý nghĩa giữa giá trị dự đoán và giá trị xác minh bằng thực nghiệm (p = 0,64 > 0,05).

3.2.4. Kết quả so sánh mẫu đối chứng và thử khả năng bắt gốc tự do mẫu tối ưu

Kết quả so sánh với mẫu trích ly truyền thống chỉ ra rằng trích ly các hợp chất polyphenol có hỗ trợ vi sóng cho hiệu quả cao hơn so với phương pháp trích ly truyền thống. Cụ thể, hàm lượng polyphenol tổng ở công suất 540 W (TPC = 194,99 mg GAE/g chất khô) cao gấp 3,1 lần so với mẫu truyền thống (TPC = 62,90 mg GAE/g chất khô). Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Mustapa *et al.* (2015) trong nghiên cứu trích ly polyphenol có hỗ trợ vi sóng từ cây bìm bịp [21].

Kết quả thử khả năng bắt gốc tự do DPPH của mẫu tối ưu (Bảng 6) cho thấy, hiệu suất kháng oxy hóa của mẫu tối ưu tỷ lệ thuận với nồng độ mẫu và khác biệt có ý nghĩa thống kê

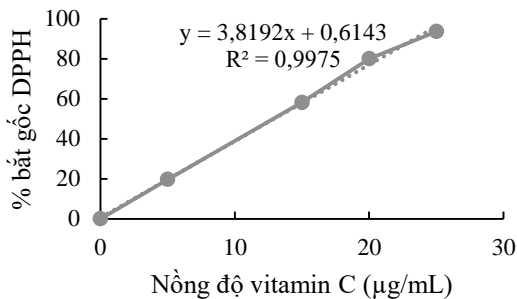
ở các nồng độ khảo sát. Hiệu suất kháng oxy hóa của dịch chiết mẫu tối ưu cao nhất là 90,25% ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$.

Bảng 6. Hiệu suất kháng oxy hóa của mẫu tối ưu

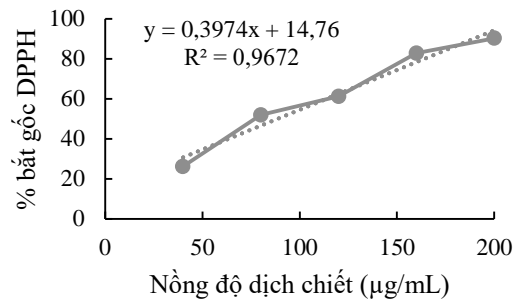
Nồng độ dịch chiết ($\mu\text{g/mL}$)	Hiệu suất kháng oxy hóa (%)
0	0
40	26,38 ^a \pm 1,60
80	50,42 ^b \pm 5,01
120	66,54 ^c \pm 5,34
160	82,61 ^d \pm 4,08
200	90,25 ^e \pm 0,63

^{a, b, c, ...}: các giá trị khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Hiệu quả bắt gốc tự do được đánh giá thông qua giá trị IC₅₀, theo đó IC₅₀ của mẫu tối ưu bằng 88,68 $\mu\text{g/mL}$; kết quả này cao hơn một số thảo dược trong các nghiên cứu trước đây như hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas* Merr.) có IC₅₀ bằng 349,35 $\mu\text{g/mL}$ (Đái Thị Xuân Trang và ctv., 2015), cây cà gai leo (*Solanum hainasense* Hance) có IC₅₀ bằng 1734 $\mu\text{g/mL}$ và cao hà thủ ô (*Streptocaulon juvenas* Merr) (cả cây) có IC₅₀ bằng 2586 $\mu\text{g/mL}$ (Quang Vinh & Jong-Ban, 2011) [22, 23]. Tuy nhiên, IC₅₀ mẫu tối ưu của nghiên cứu này vẫn thấp hơn so với vitamin C (IC₅₀ = 12,93 $\mu\text{g/mL}$) 6,69 lần.



Hình 6. Đồ thị bắt gốc tự do DPPH của vitamin C



Hình 7. Đồ thị bắt gốc tự do DPPH của dịch chiết mẫu tối ưu

4. KẾT LUẬN

Phương pháp trích ly hỗ trợ vi sóng (MAE) có hiệu quả rõ rệt đến quá trình thu nhận polyphenol từ vỏ lụa hạt điều. Hàm lượng polyphenol tổng thu được là 194,99 mg GAE/g chất khô với điều kiện trích ly tối ưu: công suất vi sóng 540 W, thời gian 84 giây. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly thể hiện qua khả năng bắt gốc tự do DPPH với giá trị IC₅₀ (88,68 $\mu\text{g/mL}$), thấp hơn so với IC₅₀ của chất kháng oxy hóa đối chứng vitamin C (12,93 $\mu\text{g/mL}$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Oliveira N. F., Leal R. S., Dantas T. N. C. - The importance of the cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) coat: a review, American International Journal of Contemporary 2 (4) (2015) 2349-4425.

2. Mohod A., Jain S., Powar A. G. - Cashew nut processing: Source of environmental pollution and standards., *BIOINFO Environment and Pollution* **1** (1) (2011) 05-11.
3. Hurtado I. - Poisonous Anacardiaceae of South America, *Clinics in Dermatology* **4** (2) (1986) 183-190.
4. Khokhar S., Magnusdottir S. G. M. - Total polyphenol, catechin and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (3) (2002) 565-570.
5. Natsume M., Osakabe N., Yamagishi M., Takizawa T., Nakamura T., Miyatake H., Hatano T., Yoshida T. - Analysis of polyphenols in cacao liquor, cocoa and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **64** (12) (2000) 2581-2587.
6. Andreescu S., Sadik O.A. - Correlation of analyte structures with biosensor responses using the detection of phenolic estrogens as a model, *Analytical chemistry* **76** (3) (2004) 552-560.
7. Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T., Yankova T. - Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology* **96** (1) (2005) 145-150.
8. Kwon Y.-I., Apostolidis E., Labbe R.G., Shetty K. - Inhibition of *Staphylococcus aureus* by phenolic phytochemicals of selected clonal herbs species of Lamiaceae family and likely mode of action through proline oxidation, *Food Biotechnology* **21** (1) (2007) 71-89.
9. Subramanian S. S., Joseph K. J., Nair A. G. R. - Polyphenols of anacardium occidentale, *Phytochemistry* **8** (3) (1969) 673.
10. Liyun WANG, Peiyong QIN, Yan HU - Study on the microwave-assisted extraction of polyphenols from tea, *Frontiers of Chemical Engineering in China* **4** (3) (2010) 307-313.
11. Nguyễn Thị Tuyết, Trần Thị Hồng Cẩm - Tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ lá húng quế có hỗ trợ vi sóng bằng phương pháp bề mặt đáp ứng, *Kỷ yếu hội thảo khoa học - Phân ban công nghệ thực phẩm* (2017) 237-248.
12. Eskilsson C. S., Björklund E. - Analytical-scale microwave-assisted extraction, *Journal of Chromatography A* **902** (1) (2000) 227-250.
13. Hemwimon S., Pavasant P., Shotipruk A. - Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*, *Separation and Purification Technology* **54** (1) (2007) 44-50.
14. Qiu Y., Liu Q., Beta T. - Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids, *Food Chemistry* **121** (1) (2010) 140-147.
15. Shao Y., Xu F., Bao J., Beta T. - Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering, *Food Chemistry* **143** (2014) 90-96.
16. Vũ Hồng Sơn, Hà Duyên Tư - Nghiên cứu trích ly polyphenol từ chè xanh vụn - Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng quá trình trích ly polyphenol, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* **7** (1) (2009) 81-86.
17. Singleton V. L., Rossi J. A. - Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture* **16** (3) (1965) 144-158.

18. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. - Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Science and Technology* **28** (1) (1995) 25-30.
19. Fu H. Y., Shieh D. E., Ho C. T. - Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms, *Journal of Food Lipids* **9** (1) (2002) 35-43.
20. Donglian Su, Huiying Li, Chenyang Lu - Microwave Extraction of Polyphenol from Pomegranate Seed, *Asia Journal of Botany* **1** (1) (2018) 36-46.
21. Mustapa A. N., Martin A., Gallego J.R., Mato R.B., Cocero M.J. - Microwave-assisted extraction of polyphenols from *Clinacanthus nutans* Lindau medicinal plant: Energy perspective and kinetics modelling, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **97** (2015) 66-74.
22. Đái Thị Xuân Trang, Lâm Hồng Bảo Ngọc, Võ Thị Tú Anh - Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juventas* Merr.), *Tạp chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ* **40** (2015) 1-6.
23. Quang-Vinh Nguyen, Jong-Ban Eun - Antimicrobial activity of some Vietnamese medicinal plants extracts, *Journal of Medicinal Plants Research* **7** (35) (2013) 2597-2605.

ABSTRACT

OPTIMISATION OF MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM CASHEW NET COAT

Mac Xuan Hoa*, Nguyen Thi Thao Minh,
Nguyen Thi Minh Chau, Nguyen Thi Phuong Trang,
Le Thi Men, Le Nguyen Tra My, Tran Thi Thanh Ngoc
Ho Chi Minh City University of Food Industry
*Email: hoamx@cntp.edu.vn

Polyphenol compounds in cashew nut testa were obtained by microwave assisted extraction (MAE) method. The aim of this research was to determine the optimal condition of extraction. The MAE conditions included two factors studied by empirical research were microwave power (W) and time (seconds), other factors were fixed based on results of earlier studies. The response was the total phenolic content (TPC, miligram GAE per gram of dry matter). The response surface methodology (RSM) based on central composite design (CCD) was used to design experiments. Empirical results showed that the relationship between TPC and MAE conditions fitted a quadratic empirical model with R^2 of 0.977. In which, both factors had significant effects on TPC ($p < 0.05$), TPC also significantly influenced by interaction between these two factors. The optimal conditions were predicted by using the empirical model, TPC was maximised (193.83 mg GAE per gram of dry matter) at microwave power of 540 W and time of 84 seconds. The optimal condition was then empirically verified with 20 repeated samples, there was no significant difference ($p > 0.05$) between the predicted value and the experimental value (194.99 mg GAE per gram of dry matter). Free radical DPPH scavenging capacity of optimal extract (IC₅₀) was 88.68 μg per mL, 6,69 times lower than vitamin C content (12.93 μg per mL).

Keywords: Optimization, microwave-assisted extraction, phenolic compounds, cashew nut coat, DPPH radical scavenging activity.