



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Công nghệ thực phẩm

website: sj.ctu.edu.vn



DOI:10.22144/ctu.jsi.2021.014

ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG PHÁP TRÍCH LY VÀ ĐỘ TUỔI THU HOẠCH ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA VỎ TRẮNG BƯỞI NĂM ROI (*Citrus grandis* (L.) OSBECK)

Nguyễn Hồng Khôi Nguyên^{1,2*}, Bạch Long Giang³ và Trần Thanh Trúc⁴

¹Nghiên cứu sinh ngành Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Kỹ thuật thực phẩm và Môi trường, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

³Phòng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

⁴Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Hồng Khôi Nguyên (email: khoinguyencntp@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 23/02/2021

Ngày nhận bài sửa: 13/03/2021

Ngày duyệt đăng: 28/04/2021

Title:

Effects of extraction methods and the maturity period on total polyphenol, flavonoid content, and antioxidant activity of the albedo of Nam Roi pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck)

Từ khóa:

Bưởi Năm Roi, flavonoid, hoạt tính chống oxy hóa, polyphenol, trích ly hỗ trợ nhiệt, trích ly hỗ trợ siêu âm

Keywords:

Antioxidant activity, flavonoid, heat-assisted extraction, Nam Roi, polyphenol, ultrasound-assisted extraction

ABSTRACT

Nam Roi pomelo is a type of pomelo grown popularly in the Mekong Delta. In the process of growing pomelo, fruit can be pruned or fallen by itself at different maturity period such as 1-2 months, 3-4 months, 5-6 months until 7-8 months (nearly - ripening or ripening stage) and > 9 months is the stage when pomelo is fully ripe or overripe. The albedo of pomelo contains biological compounds with antioxidant activity. The ultrasonic-assisted extraction (UAE) and the heat-assisted extraction (HAE) were used in this study to compare polyphenol, flavonoid content and antioxidant activity of albedo at other maturity periods. The results showed that the ultrasonic-assisted extraction method had the higher efficiency in obtaining active ingredients than the heat-assisted extraction method; pomelo at the harvest age of 1-2 months had the highest content of, the second highest content followed by 3-4 months, then > 9 months, then 7-8 months and the harvest age of 5-6 months had the lowest content of bioactive substances.

TÓM TẮT

Bưởi Năm Roi là một loại bưởi được trồng phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long. Trong quá trình trồng, bưởi có thể được tỉa hoặc tự rụng ở các độ tuổi khác nhau như 1-2 tháng, 3-4 tháng, 5-6 tháng cho đến thời gian 7-8 tháng lúc này quả sắp chín hoặc đã chín và > 9 tháng là giai đoạn bưởi chín hoàn toàn hoặc chín nhiều. Trong vỏ trắng của bưởi Năm Roi có chứa các hợp chất sinh học với hoạt tính chống oxy hóa, do đó trong nghiên cứu này, phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm (UAE) và phương pháp trích ly có hỗ trợ nhiệt (HAE) được sử dụng để so sánh hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của vỏ bưởi trắng ở các độ tuổi thu hoạch khác nhau. Kết quả cho thấy phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm có hiệu quả thu nhận hoạt chất cao hơn phương pháp trích ly có hỗ trợ nhiệt, bưởi ở độ tuổi thu hoạch 1-2 tháng vỏ bưởi trắng với phương pháp trích ly hỗ trợ siêu âm có hàm lượng hoạt chất cao nhất, hàm lượng cao tiếp theo là giai đoạn 3-4 tháng, tiếp đó là giai đoạn > 9 tháng, tiếp theo là 7-8 tháng, và ở giai đoạn 5-6 tháng hàm lượng hoạt chất trong vỏ bưởi trắng thấp nhất.

1. GIỚI THIỆU

Bưởi Năm Roi (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) được ghi nhận là xuất phát từ gia đình ông Hội đồng Bùi Quang Huy, ở xã Mỹ Thuận (nay là Thuận An), huyện Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long. Bưởi Năm Roi chiết nhánh lớn trồng 2 năm bắt đầu cho trái, thời gian từ khi trở hoa đến khi trái chín khoảng 8 tháng và có thể neo thêm 1 – 2 tháng, năng suất 20 kg/cây, cây trưởng thành trung bình cho 53 kg/cây. Trái bưởi hình quả lê, cao trung bình 17,2 cm và đường kính 15,1 cm, có khối lượng 1.241,8 g, khi chín vỏ trái có màu xanh vàng thấy rõ túi tinh dầu, vỏ trái sần và dày đến 19 mm, nặng 516 g chiếm 41,6% khối lượng trái (Lê Văn Hòa & Nguyễn Bảo Vệ, 2016). Trong thời gian phát triển, ở độ tuổi 1-2 tháng thường có hiện tượng bưởi non rụng hoặc được tia bỏ để các quả còn lại có thể phát triển tốt hơn, ở các độ tuổi 3-4 tháng và 5-6 tháng là các giai đoạn quả phát triển cả về khối lượng và chất lượng của quả, và ở giai đoạn 7-8 tháng bưởi ở trạng thái sắp chín hoặc chín và ở giai đoạn > 9 tháng quả chín hoàn toàn hoặc rất chín.

Cấu tạo của quả bưởi gồm có các bộ phận chính: vỏ quả (vỏ xanh và vỏ trắng), thịt quả. Vỏ xanh là lớp vỏ ngoài cùng của quả, được bao phủ bởi lớp biểu bì và các tế bào nhu mô. Vỏ xanh chứa các chất diệp lục hay còn gọi là lục lạp và dần dần chuyển thành lục sắc khi màu quả thay đổi. Vỏ trắng là lớp vỏ bên trong thường có màu trắng hoặc màu khác như hồng nhạt hoặc hồng. Các tế bào nhu mô cấu tạo dài với khoảng gian bào rộng, chứa nhiều carbohydrate và pectin. Thịt quả (múi bưởi hay tép bưởi) là phần ăn được của quả có múi, giữa các múi bưởi được bao bọc bởi một lớp màng mỏng bên ngoài (màng ngăn hoặc màng phân chia giữa các múi), bên trong chứa các túi nước quả (Ladanya, 2010).

Quả có múi là một trong những nguồn giàu các chất chống oxy hóa vì chúng có chứa vitamin C, polyphenol, flavonoid và các hợp chất carotenoid (Abudayeh, 2019). Hai hợp chất chống oxy hóa quan trọng nhất được tìm thấy nhiều trong vỏ bưởi đã được các tác giả khác nghiên cứu là polyphenol và flavonoid. Theo nghiên cứu của Kittana Makynen et al., hàm lượng polyphenol trong bưởi (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) là 101,32 đến 113,73 mgGAE/g chất khô (Mäkynen et al., 2013). Hàm lượng flavonoid là 21,2 mg/100g vỏ bưởi *Citrus maxima* [Burm.] Merr. và hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH có giá trị IC₅₀ ở nồng độ 68,55 µg/mL (Abudayeh, 2019).

Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát ảnh hưởng của phương pháp trích ly (phương pháp trích ly hỗ trợ siêu âm và phương pháp trích ly hỗ trợ nhiệt) và độ tuổi thu hoạch của bưởi (1-2 tháng, 3-4 tháng, 5-6 tháng, 7-8 tháng và > 9 tháng) đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa có trong vỏ trắng bưởi Năm Roi. Nghiên cứu này có thể làm tiền đề để lựa chọn nguồn vỏ bưởi với độ tuổi thu hoạch thích hợp để thu nhận các hợp chất sinh học như polyphenol, flavonoid giàu hoạt tính kháng oxy hóa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thí nghiệm được bắt đầu vào tháng 7/2020 đến cuối tháng 12/2020. Bưởi Năm Roi tại nhà vườn ở huyện Bình Minh, Vĩnh Long sau khi ra hoa và bắt đầu kết quả, tiến hành đánh dấu các mẫu của đợt bưởi này, số lượng mẫu được đánh dấu là 60 mẫu/1 cây, trên 5 cây khác nhau. Theo dõi quá trình phát triển của bưởi, các quả bưởi được tia bót theo các độ tuổi thu hoạch 1 - 2 tháng, 3 - 4 tháng, 5 - 6 tháng, 7 - 8 tháng và trên 9 tháng, ở mỗi độ tuổi này bưởi được thu hoạch trên 5 cây, mỗi cây thu hoạch 10 quả.

Bưởi Năm Roi được gọt phần vỏ xanh bên ngoài, phần vỏ trắng được tách ra, cắt nhỏ và sấy bằng máy sấy bơm nhiệt ở nhiệt độ 20°C, vỏ bưởi được sấy đến dưới 5% ẩm, sau đó vỏ bưởi được xay nhuyễn, sàng qua sàng có kích thước 0,5 mm, và bảo quản lạnh dưới 4°C trong suốt thời gian làm thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định hàm lượng polyphenol tổng (TPC)

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) được xác định theo phương pháp được mô tả bởi Siddiqui et al. (2017) có một số điều chỉnh để phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Mẫu trích ly được pha loãng với độ pha loãng thích hợp, sau đó thêm vào 5,0 mL thuốc thử Folin Ciocalteu, để 5 phút sau đó thêm vào 4 mL dung dịch Na₂CO₃ 20%. Để mẫu ở chỗ tối 30 phút và đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm. Phản ứng tạo thành màu xanh lam bởi phức hợp phosphotungstic-phosphomolybden, trong đó sự hấp thụ tối đa của các tế bào mang màu phụ thuộc vào dung dịch kiềm và nồng độ của các hợp chất phenolic (Blainski et al., 2013). Sử dụng gallic acid làm chất chuẩn, hàm lượng polyphenol tổng của các chất chiết xuất được biểu thị bằng số miligam gallic acid tương đương trên 1 g chất khô nguyên liệu (mgGAE/g chất khô).

Số liệu được thực hiện lặp lại 3 lần và thể hiện dưới dạng giá trị trung bình \pm SD.

2.2.2. Xác định hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid tổng được thực hiện dựa trên phương pháp của (Matic, 2017) có điều chỉnh cho phù hợp với thí nghiệm thực tế. Dung dịch mẫu (dịch trích ly đã được pha loãng thích hợp) 1 mL được thêm vào 0,06 mL NaNO_2 5%, sau 6 phút được thêm vào 0,06 mL AlCl_3 10%, sau 5 phút được thêm vào 0,4 mL NaOH 1mol/lít, 0,48 mL nước cất được thêm vào. Các giá trị độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 510 nm. Sử dụng quercetin làm chất chuẩn, hàm lượng flavonoid tổng của các chất chiết xuất được biểu thị bằng số miligam quercetin tương đương trên 1 g chất khô nguyên liệu (mgQUE/g chất khô). Số liệu được thực hiện lặp lại 3 lần và thể hiện dưới dạng giá trị trung bình \pm SD.

2.2.3. Xác định hoạt tính chống oxy hóa DPPH (Brand-Williams et al., 1995)

Nguyên tắc của phương pháp này dựa vào gốc tự do ổn định điện hình trên phân tử DPPH, trong cấu trúc hóa học của phân tử DPPH tồn tại một electron tự do ở nguyên tử nitơ, gốc tự do này bền và ổn định đồng thời khi chất này tồn tại ở dạng gốc tự do hợp chất có màu tím đậm và dung dịch với dung môi ethanol có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng ánh sáng tím 517 nm (Kedare et al., 2011). Dung dịch gốc được chuẩn bị bằng cách hòa tan 24 mg DPPH với 100 mL methanol. Dịch gốc được pha loãng theo tỷ lệ 1:4 với methanol và được hiệu chỉnh về độ hấp thụ 1,1 với sai số 0,02. Lấy 1 mL dung dịch mẫu đã pha loãng với hệ số pha loãng thích hợp cho thêm vào 3 mL DPPH. Các giá trị độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng sau 30 phút được đo bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 515 nm. Hoạt tính chống oxy hóa DPPH được thể hiện bằng % ức chế gốc tự do DPPH của dịch trích cần xác định. Kết quả thí nghiệm được thực hiện 3 lần và thể hiện dưới dạng giá trị trung bình \pm SD.

2.2.4. Xác định hoạt tính chống oxy hóa ABTS (Thaipong et al., 2006)

ABTS được sử dụng cần được oxy hóa để tạo thành dạng ABTS^+ mang một electron tự do bởi potassium persulfate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), ABTS^+ ở dạng gốc tự do có màu xanh lam hoặc xanh lục có độ hấp thụ tối ưu ở bước sóng 734 nm, khi nhận thêm điện tử electron trở về dạng ban đầu dẫn đến mất dần màu xanh, thông qua đó có thể đánh giá được khả năng

kháng oxy hóa của đối tượng cần kiểm chứng. Dung dịch gốc được chuẩn bị bằng cách trộn theo tỷ lệ 1:1 ABTS 7,4 mM và $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,6 mM. Dung dịch gốc được pha loãng theo tỷ lệ 1:6 với methanol và được hiệu chỉnh về độ hấp thụ 1,1 với sai số 0,02. Dịch mẫu 0,15 mL được thêm vào 2,85 mL ABTS. Các giá trị độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng sau 30 phút được đo bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 734 nm. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS được thể hiện bằng % ức chế gốc tự do ABTS của dịch trích cần xác định. Kết quả thí nghiệm được thực hiện 3 lần và thể hiện dưới dạng giá trị trung bình \pm SD.

2.2.5. Xác định khả năng khử sắt FRAP (Thaipong et al., 2006)

Fe (III) trong dung dịch thuốc thử Frap được các chất kháng oxy hóa khử về Fe (II) trong môi trường pH thấp, Fe (II) được phản ứng với TPTZ tạo ra phức hợp màu xanh có độ hấp thụ bước sóng 593 nm. Dung dịch đệm Frap được chuẩn bị bằng cách trộn theo tỷ lệ 10:1:1, (CH_3COOH và $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dung dịch được hiệu chỉnh về pH 3,6, (TPTZ 10 mM được pha trong 40 mM HCl), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM. Sau đó được ủ trong 30 phút ở 37°C . Dịch mẫu 0.15 mL được thêm vào 2.85 mL đệm Frap. Các giá trị độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng sau 30 phút được đo bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 593nm. Sử dụng vitamin C làm chất chuẩn, tổng năng lực khử sắt FRAP của các chất chiết xuất được biểu thị bằng số miligam lượng tương đương vitamin C trên 1 gam chất khô nguyên liệu ban đầu (mgVCE/g chất khô). Số liệu được báo cáo là trung bình \pm SD cho ít nhất ba lần lặp lại.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên và tiến hành trên cơ sở một nhân tố và cố định các nhân tố còn lại. Mỗi số liệu thí nghiệm khảo sát được thực hiện lặp lại 3 lần. Dữ liệu thực nghiệm được thống kê bằng phần mềm Excel 2013 và được phân tích bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 20, phân tích phương sai ANOVA và kiểm định Duncan được áp dụng để kết luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức.

2.3. Nội dung nghiên cứu

Bưởi được thu hoạch ở các độ tuổi khác nhau 1-2 tháng, 3-4 tháng, 5-6 tháng, 7-8 tháng và > 9 tháng trên 5 cây, mỗi cây 10 quả, các quả được xử lý và đồng nhất mẫu như đã trình bày ở phần vật liệu nghiên cứu.

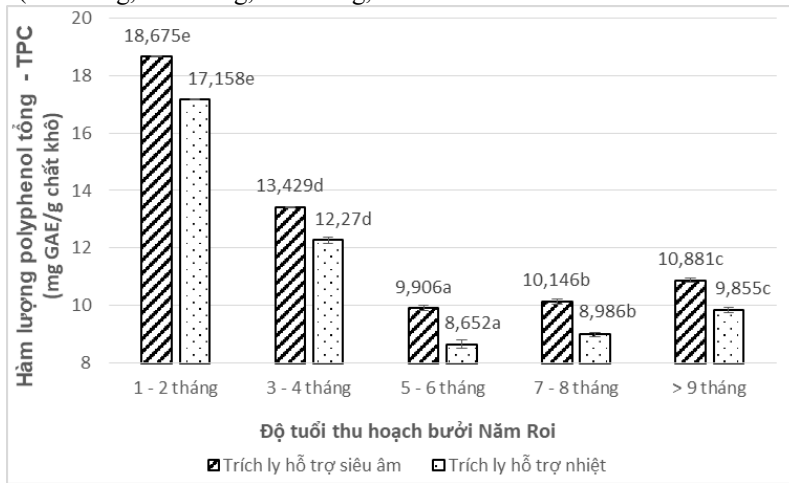
Mẫu vỏ bưởi được trích ly có hỗ trợ của thiết bị siêu âm Asonic Ultrasonic Cleaners PRO 08 - 40 KHz, Slovenia và bể điều nhiệt Daihan - WB22, Hàn

Quốc. Trong quá trình trích ly có hỗ trợ siêu âm và hỗ trợ nhiệt sử dụng cồn ethanol có nồng độ 60° làm dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1/30), nhiệt độ trích ly 65°C, thời gian trích ly 60 phút. Mẫu sau khi trích ly được lọc chân không, đựng trong các cốc được bọc giấy bạc để tránh ánh sáng, sau đó đo hàm lượng polyphenol, flavonoid, hoạt tính chống oxy hóa DPPH, ABTS và FRAP. Mỗi thông số thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần, từ đó có cơ sở để so sánh hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của vỏ trắng bưởi Năm Roi ở các độ tuổi thu hoạch (1-2 tháng, 3-4 tháng, 5-6 tháng,

7-8 tháng, và > 9 tháng) bằng phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm và trích ly có hỗ trợ nhiệt.

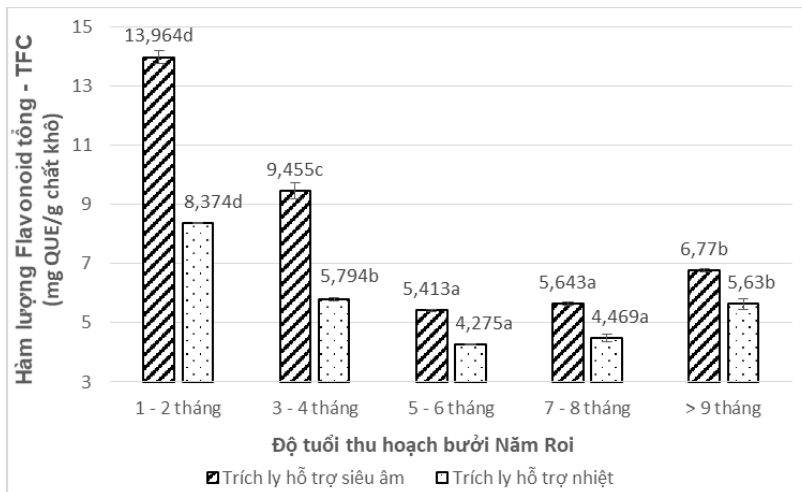
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các giai đoạn phát triển khác nhau của quả bưởi liên quan trực tiếp đến sự phát triển của tế bào và hàm lượng các hoạt chất sinh học có trong tế bào. Hàm lượng polyphenol tổng - TPC và hàm lượng flavonoid tổng - TFC theo độ tuổi thu hoạch của bưởi và phương pháp trích ly được thể hiện trên Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly và độ tuổi thu hoạch bưởi Năm Roi đến hàm lượng polyphenol tổng của vỏ trắng

(Các giá trị trung bình có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

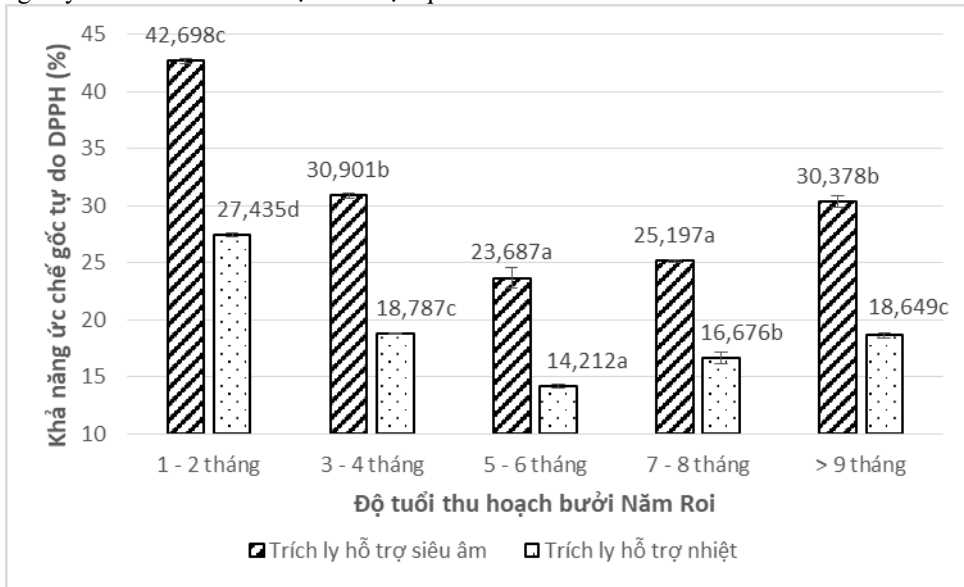


Hình 2. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly và độ tuổi thu hoạch bưởi Năm Roi đến hàm lượng flavonoid tổng của vỏ trắng

(Các giá trị trung bình có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

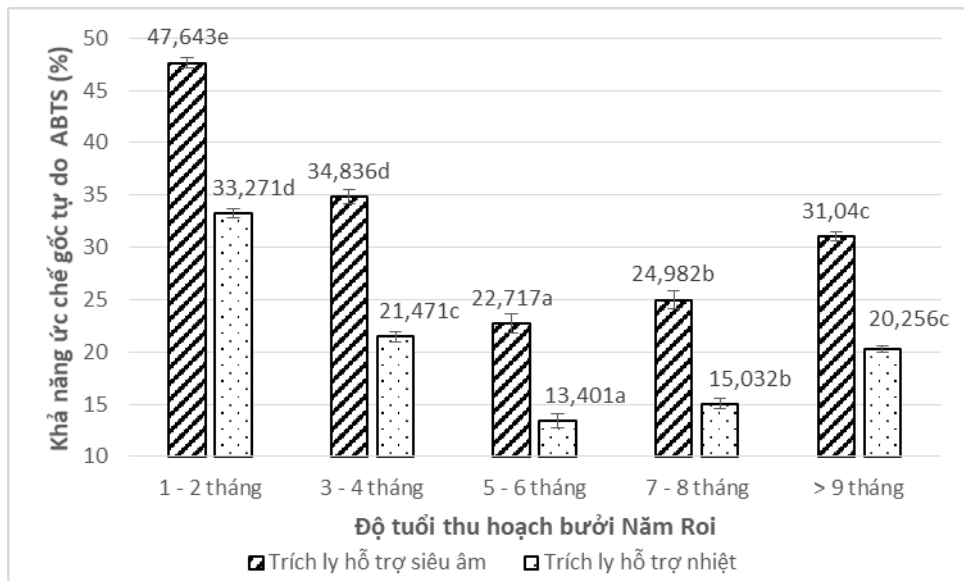
Các hợp chất sinh học có trong vỏ bưởi góp phần tạo nên khả năng kháng oxy hóa của vỏ bưởi, khả năng kháng oxy hóa của vỏ bưởi được thể hiện qua

khả năng ức chế gốc tự do DPPH, khả năng ức chế gốc tự do ABTS và khả năng khử sắt FRAP lần lượt được thể hiện qua các Hình 3, Hình 4 và Hình 5.



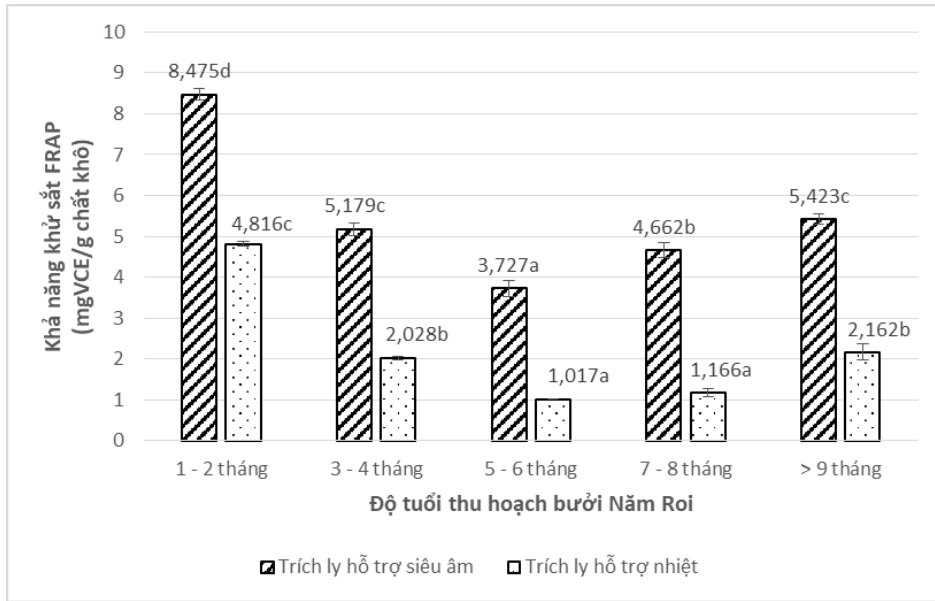
Hình 3. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly và độ tuổi thu hoạch bưởi Năm Roi đến khả năng ức chế gốc tự do DPPH của vỏ trắng

(Các giá trị trung bình có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%)



Hình 4. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly và độ tuổi thu hoạch bưởi Năm Roi đến khả năng ức chế gốc tự do ABTS của vỏ trắng

(Các giá trị trung bình có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%)



Hình 5. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly và độ tuổi thu hoạch bưởi Năm Roi đến khả năng khử sắt FRAP của vỏ trắng

(Các giá trị trung bình có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%)

Từ các biểu đồ trên có thể rút ra kết luận phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm giúp thu nhận hoạt chất với hàm lượng cao hơn và hoạt tính chống oxy hóa cao hơn so với phương pháp trích ly có hỗ trợ nhiệt và độ tuổi thu hoạch của bưởi có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học có trong vỏ bưởi. Ở giai đoạn đầu tiên của quá trình phát triển, lúc 1-2 tháng vỏ bưởi có hàm lượng hoạt chất cao nhất, hàm lượng hoạt chất này giảm dần qua các giai đoạn phát triển tiếp theo 3-4 tháng, 5-6 tháng là giai đoạn hàm lượng hoạt chất sinh học thấp nhất, tiếp sau đó khi bưởi sắp chín và chín tương ứng với giai đoạn 7-8 tháng thì hàm lượng hoạt chất sinh học trong vỏ bưởi tăng trở lại và ở giai đoạn quả rất chín > 9 tháng thì hàm lượng hoạt chất sinh học trong vỏ bưởi tiếp tục tăng trở lại nhưng vẫn thấp hơn ở giai đoạn 1-2 và 3-4 tháng.

Ảnh hưởng của các phương pháp trích ly đến hàm lượng hoạt chất sinh học thu được cũng đã được nhiều tác giả nghiên cứu, chẳng hạn như chiết xuất có hỗ trợ siêu âm và chiết xuất có hỗ trợ vi sóng, mang lại những lợi thế về thời gian trích ly, lượng dung môi sử dụng và hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học được thu nhận. Từ quan điểm bảo vệ môi trường, các ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm, việc áp dụng các quy trình chiết xuất "xanh", chiết xuất có hỗ trợ siêu âm và chiết xuất có hỗ trợ vi sóng được khuyến khích sử dụng

để thu được các chiết xuất giàu polyphenol từ các nguồn thực vật khác nhau (Jovanović et al., 2017). Siêu âm là một sóng cơ học đòi hỏi một sự đàn hồi trung bình để lan truyền và nó khác với tần số âm thanh mà con người nghe được. Các tần số nghe được đối với con người bao gồm từ 16 Hz đến 20 kHz, trong khi tần số siêu âm nằm trong khoảng từ 20 kHz đến 10 MHz (Rostagno, 2013). Theo Rostagno (2013), các tác động chính của sóng siêu âm trong môi trường lỏng là do hiện tượng xâm thực, xuất phát từ các quá trình vật lý tạo ra, phóng to và làm nổ các bong bóng siêu nhỏ của khí hòa tan trong chất lỏng. Khi kích thước của những bong bóng này đạt đến điểm quan trọng, chúng sẽ sụp đổ trong chu kỳ nén và vì quá trình đột nóng nhanh hơn quá trình vận chuyển nhiệt, một nhiệt lượng nhất thời được tạo ra. Nhiệt độ và áp suất tại thời điểm sụp đổ của các bong bóng khí đã được ước tính lên đến 5000 K và 5000 atm trong bể siêu âm ở nhiệt độ phòng, tạo ra các điểm nóng có thể tăng tốc đáng kể khả năng phản ứng hóa học của môi trường. Theo Wissam et al.(2012), trích ly hỗ trợ nhiệt có thời gian chiết xuất lâu và nhiệt độ cao làm tăng quá trình oxy hóa các hợp chất phenol làm giảm hàm lượng polyphenol trong dịch chiết. Theo Jovanović et al. (2017), nhược điểm chính của quá trình trích ly hỗ trợ nhiệt đó là tiêu thụ dung môi cao, làm tăng chi phí và gây ra các vấn đề môi trường, trong khi hàm lượng polyphenol thấp hơn so với các kỹ thuật chiết

xuất mới chẳng hạn như chiết xuất có hỗ trợ siêu âm và chiết xuất có hỗ trợ vi sóng. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Jovanović et al. (2019) trên cỏ xạ hương (*Thymus Serpyllum*) được trích ly và đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol, tác giả cũng kết luận rằng phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm thu được hàm lượng polyphenol cao hơn và hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn so với hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa của phương pháp trích ly có hỗ trợ nhiệt.

Hàm lượng các hoạt chất sinh học của quả chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như giống cây trồng, lượng mưa, cường độ nắng, thời tiết của các mùa khác nhau và các giai đoạn trong quá trình sinh trưởng cũng như quá trình chín. Theo Guo et al. (2015), khả năng cảm nhận và phản ứng với các kích thích cơ học bên ngoài ở các khoảng thời gian sinh trưởng khác nhau là điều cần thiết đối với nhiều khía cạnh sinh lý của thực vật, bao gồm tự bảo vệ, thu nhận chất dinh dưỡng và sinh trưởng. Lông tơ đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ thực vật khỏi nhiều loại côn trùng, các chất chuyển hóa thứ cấp được giải phóng bởi tuyến lông, có trong dạng terpenoid, flavonoid, và những dạng khác có thể đẩy lùi, và bắt côn trùng gây hại cũng như các loài gây hại khác, do đó tạo ra hệ bảo vệ thực vật (Saddique et al., 2018). Pandino et al. (2013) đã xác định ảnh hưởng của bức xạ mặt trời và nhiệt độ không khí lên hàm lượng polyphenol của atisô trên các cây trồng ngoài đồng đang ra hoa được thu hoạch liên tiếp mỗi tháng một lần trong khoảng thời gian từ tháng 11 đến tháng 4. Sự kết hợp của nhiệt độ không khí thấp và mức bức xạ mặt trời trong tháng 2 đã nâng cao tổng hàm lượng polyphenol (12,44 g/kg chất khô). Tuy nhiên, hàm lượng polyphenol giảm bởi ảnh hưởng mức độ bức xạ mặt trời và đạt (9,46 g/kg chất khô) trong tháng 4. Theo Eid et al. (2013), có thể tồn tại một mức độ thay đổi lớn về hàm lượng polyphenol đối với giống, vị trí địa lý, điều kiện môi trường và trạng thái chín. Trong quá trình trưởng thành, sự biến đổi cấu trúc thành tế bào và tích tụ carbohydrate đã được báo cáo. Trong nhiều loại trái cây, proanthocyanidins được tích lũy trước khi chín là đối tượng của phản ứng Bate-Smith, dẫn đến việc giải phóng anthocyanins, do đó nó sẽ tăng nồng độ khi chín và trong quá trình bảo quản sau thu hoạch. Ngược lại, các polyphenol khác có xu hướng giảm do quá trình oxy hóa và hóa nâu do enzyme, trong quá trình chín quả chịu tác động của tia cực tím cao và nhiệt độ tương đối cao trong quá trình chín dẫn đến sự chi phối của các phản ứng oxy hóa trong quả. Theo Kalisz et al. (2020), hoạt tính kháng oxy hóa và tổng hàm lượng polyphenol bị ảnh hưởng đáng

kê bởi giống, thời gian thu hoạch, đối với hai giống được khảo sát (MS, VA) của cây đại hoàng được thu hoạch vào mùa xuân cho thấy giá trị hoạt động chống oxy hóa cao hơn so với mùa thu. Tổng hàm lượng polyphenol (TP) cao nhất được tìm thấy đối với đại hoàng MS và đạt đến giá trị 1270,27 (mg/100 g, chất khô nguyên liệu, dm). Tuy nhiên, hàm lượng TP trong VS và VA đại hoàng là tương tự nhau và tương ứng là 500,07 và 433,84 (mg/100g, dm). Theo nghiên cứu của Stéger-Máté et al. (2010) về thời điểm thu hoạch của 4 giống cherry chua, khi độ chín của quả tăng lên thì hàm lượng vitamin C, anthocyanin và polyphenol tăng, đối với giống cherry Érdi jubileum hàm lượng polyphenol cũng tăng đáng kể ở giữa thời gian thu hái thứ 2 và thứ 3, và vào cuối quá chín hàm lượng polyphenol đạt rất cao 276,4 mg/L. Dựa trên các kết quả nghiên cứu trên có thể đưa ra giả thuyết rằng mỗi loại quả đều có cơ chế tự bảo vệ, tại thời điểm thu hoạch 1-2 tháng quả còn non, quả trong giai đoạn này mới hình thành lớp vỏ bên ngoài là chủ yếu, do đó các hợp chất sinh học tập trung tại lớp vỏ cao góp phần bảo vệ quả non. Trong quá trình phát triển của búp, quả lớn dần để phát triển phần thịt quả bên trong, khi đó hàm lượng hoạt chất sinh học có trong vỏ búp giảm xuống, nhưng đến khi quả sắp chín cho đến chín, thì các hợp chất của vỏ quả lại tăng lên để bảo vệ tốt hơn cho phần thịt quả, hạn chế sự tấn công của côn trùng và các loài gây hại, và khi quả rất chín là lúc phần thịt quả dễ bị tấn công bởi các loài gây hại nhất, lúc này các hợp chất sinh học trong vỏ quả tiếp tục tăng nhưng vẫn không cao bằng giai đoạn búp còn non.

4. KẾT LUẬN

Trong quá trình trồng bưởi, ở độ tuổi thu hoạch 1-2 tháng là những quả bưởi được nhà vườn tía bót để cây có thể phát triển tốt. Trong giai đoạn sau đó, 3-4 tháng, 5-6 tháng là giai đoạn bưởi đang phát triển nhưng có thể rụng do thời tiết hoặc cây không đủ sức nuôi quả. Giai đoạn 7-8 tháng là giai đoạn quả già gần chín và chín, và giai đoạn > 9 tháng là khi bưởi rất chín. Kết quả cho thấy ở các giai đoạn của độ tuổi thu hoạch, quá trình trích ly hỗ trợ siêu âm luôn đạt giá trị hàm lượng các hoạt chất cao hơn so với trích ly hỗ trợ nhiệt, giai đoạn 1-2 tháng hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa cao nhất, sau đó giai đoạn 3-4 tháng, và 5-6 tháng hàm lượng hoạt chất theo chiều hướng giảm dần, tại giai đoạn 7-8 tháng hàm lượng hoạt chất tăng lên và giai đoạn > 9 tháng hàm lượng hoạt chất tiếp tục tăng lên. Như vậy có thể kết luận rằng phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm và vỏ trắng bưởi Năm Roi ở giai đoạn thu hoạch 1-2 tháng tuổi

có hàm hoạt chất cao nhất với các giá trị UAE-polyphenol ($18,675 \pm 0,0132$ mgGAE/ g chất khô), UAE-flavonoid ($13,964 \pm 0,2178$ mgQUE/ g chất khô), UAE-DPPH ($42,698 \pm 0,236\%$), UAE-ABTS ($47,643 \pm 0,528\%$), và UAE-FRAP ($8,457 \pm 0,1435$ mgVCE/ g chất khô). Bên cạnh bưởi 1-2 tháng thì bưởi ở giai đoạn 3-4 tháng cũng như giai đoạn 7-8 tháng và giai đoạn > 9 tháng bưởi cũng có hàm lượng hoạt chất sinh học cao, đồng thời vỏ bưởi tại các độ tuổi thu hoạch này cũng là nguồn nguyên liệu dồi dào từ quá trình chế biến bưởi nên cũng cần được quan tâm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ “Nghiên cứu công nghệ sơ chế, bảo quản bưởi Da xanh, Năm roi phục vụ yêu cầu xuất khẩu” (mã số: CT2020.01.TCT.04) thuộc Chương trình KH&CN Bộ GD&ĐT “Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ tiên tiến trong bảo quản, chế biến nông thủy sản vùng Đồng bằng Sông Cửu Long”. Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn sự hỗ trợ về cơ sở vật chất của Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, cảm ơn sự tham gia của sinh viên Huỳnh Ngọc Dương trong quá trình thực hiện thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abudayeh, Z. H., Al Khalifa, I. I., Mohammed, S. M., and Ahmad, A. A. (2019). Phytochemical content and antioxidant activities of pomelo peel extract. *Pharmacognosy Research*, 11(3), 244- 247

Blainski, A., Lopes, G. C., and De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.

Chen, Q., Hu, Z., Yao, F. Y. D., & Liang, H. (2016). Study of two-stage microwave extraction of essential oil and pectin from pomelo peels. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 538-545.

Eid, N. M., Al-Awadi, B., Vauzour, D., Oruna-Concha, M. J., & Spencer, J. P. (2013). Effect of cultivar type and ripening on the polyphenol content of date palm fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(10), 2453-2460.

Guo, Q., Dai, E., Han, X., Xie, S., Chao, E., & Chen, Z. (2015). Fast nastic motion of plants and bioinspired structures. *Journal of the Royal Society Interface*, 12(110), 20150598.

Kalisz, S., Oszmiański, J., Kolniak-Ostek, J., Grobelna, A., Kieliszek, M., and Cendrowski, A. (2020). Effect of a variety of polyphenols compounds and antioxidant properties of rhubarb (*Rheum rhubarbarum*). *LWT-Food Science and Technology*, 118, 108775.

Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422.

Ladanyia, M. (2010). *Citrus fruit: biology, technology and evaluation*. Academic press (Original work published 2008).

Lê Văn Hòa & Nguyễn Bảo Vệ (2016). *Cơ sở cải thiện năng suất và chất lượng cây ăn trái ở Đồng bằng sông Cửu Long*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.

Mäkinen, K., Jitsaardkul, S., Tachasamran, P., Sakai, N., Puranachoti, S., Nirojsinlapachai, N. and Adisakwattana, S. (2013). Cultivar variations in antioxidant and antihyperlipidemic properties of pomelo pulp (*Citrus grandis* [L.] Osbeck) in Thailand. *Food Chemistry*, 139(1-4), 735-743.

Matić, P., Sabljčić, M., and Jakobek, L. (2017). Validation of spectrophotometric methods for the determination of total polyphenol and total flavonoid content. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1795-1803.

Jovanović, A., Petrović, P., Đorđević, V., Zdunić, G., Šavikin, K., and Bugarski, B. (2017). Polyphenols extraction from plant sources. *Lekovite sirovine*, (37), 45-49.

Jovanović, A., Skrt, M., Petrović, P., Častvan, I., Zdunić, G., Šavikin, K., and Bugarski, B. (2019). Ethanol Thymus serpyllum extracts, evaluation of extraction conditions via total polyphenol content and radical scavenging activity. *Lekovite sirovine*, (39), 23-29.

Pandino, G., Lombardo, S., Monaco, A. L., and Mauromicale, G. (2013). Choice of time of harvest influences the polyphenol profile of globe artichoke. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1822-1828.

Rostagno, M. A., & Prado, J. M. (2013). *Natural product extraction, principles and applications*. Royal Society of Chemistry.

Saddique, M., Kamran, M., and Shahbaz, M. (2018). Differential responses of plants to biotic stress and the role of metabolites. In P. Ahmad, M. A. Ahanger, V. P. Singh, D. K. Tripathi, P. Alam, M. N. Alyemeni (Eds.), *Plant metabolites and regulation under environmental stress*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812689-9.00004-2>

Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A., and Mahmood, Z. (2017). Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa

- (*Nepeta bracteata* Benth). *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(4), 360-363.
- Stéger-Máté, M., Ficzek, G., Kállay, E., Bujdosó, G., Barta, J., and Tóth, M. (2010). Optimising harvest time of sour cherry cultivars on the basis of quality parameters. *Acta alimentaria*, 39(1), 59-68.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- Wissam, Z., Ghada, B., Wassim, A., and Warid, K., 2012. Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4 (Suppl 3), 675-682.