

## KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY POLYPHENOL TỪ VỎ QUẢ CHÔM CHÔM (*Nephelium lappaceum*) VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT

Đỗ Thị Hiền

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

### TÓM TẮT

Chôm chôm là loài trái cây phổ biến, vỏ và hạt chôm chôm chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học trong đó polyphenol là thành phần điển hình có trong vỏ chôm chôm. Để tận dụng nguồn phế phẩm nghiên cứu tiến hành khảo sát điều kiện trích ly polyphenol từ vỏ quả chôm chôm. Nghiên cứu này khảo sát vỏ quả loại chôm chôm thái, nhãn, Java chọn ra loại vỏ chứa nhiều polyphenol nhất, sau đó khảo sát loại dung môi trích ly nước, ethanol 80%, ethanol 96% - acetone (4:1), acetone 70% và các phương pháp trích ly ngâm chiết, soxhlet, ngâm chiết kết hợp siêu âm, ngâm chiết kết hợp vi sóng. Đồng thời khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lần lượt 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 (g/mL), thời gian siêu âm 20, 30, 40 và 50 phút, nhiệt độ siêu âm 45÷75°C, tần số 50/60 Hz. Kết quả cho thấy vỏ chôm chôm nhãn, phương pháp ngâm chiết kết hợp với siêu âm, sử dụng ethanol 80%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 (w/v), thời gian siêu âm 30 phút và nhiệt độ 55°C cho TPC (total polyphenol content) cao nhất 61,93 mg/g. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa IC<sub>50</sub> của cao chiết 7,191 (µg/mL), thấp hơn ascorbic acid. Kết quả chạy phổ FTIR của cao chiết cho thấy xuất hiện các nhóm chức đặc trưng của polyphenol. Nghiên cứu đã trích ly thành công polyphenol bằng phương pháp ngâm chiết kết hợp siêu âm, có thể nghiên cứu thêm khả năng kháng khuẩn để ứng dụng.

*Từ khóa:* Chôm chôm, dung môi trích ly, kháng oxy hóa bằng DPPH, polyphenol, trích ly hỗ trợ siêu âm.

### MỞ ĐẦU

Chôm chôm (*Nephelium lappaceum*) là một loại trái cây nhiệt đới có nguồn gốc từ Đông Nam Á, thuộc họ bô hòn. Nó có màu đỏ hoặc vàng, hình trứng, trái cây ngọt, mọng nước, giàu vitamin C. Trái cây này được tiêu thụ tươi, đóng hộp hoặc chế biến và việc tiêu thụ nó dẫn đến việc tạo ra một lượng lớn chất thải từ hạt và vỏ. Các sản phẩm phụ này rất giàu phenolic với hơn 50 hợp chất được xác định. Trong số này, các thành phần chính là acid gallic, acid ellagic, corilagin và geraniin (Hernández *et al.*, 2017). Nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng hàm lượng polyphenol trong vỏ chôm chôm có hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng virus, chống ung thư, chống dị ứng, chống béo phì, trị tiểu đường, chống viêm khớp, cũng như là một chất thúc đẩy sức khỏe tim mạch (Thitilertdech *et al.*, 2008; Yunusa *et al.*, 2018). Một số hợp chất sinh học trong vỏ và hạt có tác dụng tăng cường sức khỏe, đánh giá an toàn có thể ứng dụng tiềm năng trong các ngành công nghiệp thực phẩm – dược phẩm (Rakariyatham *et al.*, 2020)

Gusman và Tsai (2015) đã nghiên cứu chiết xuất các hợp chất kháng oxy hóa trong đó có polyphenol từ vỏ chôm chôm (*Nephelium lappaceum* L.). Quá trình chiết được tiến hành dựa trên tỷ lệ dung môi (1:10 ÷ 1:30 g/mL), nồng độ ethanol (0 ÷ 95%), nhiệt độ chiết siêu âm (30 ÷ 70°C) và phương pháp chiết (thông thường từ 6 đến 36 giờ ở nhiệt độ phòng và siêu âm từ 0,5 đến 10 phút ở 50°C). Sun và đồng tác giả (2012) đã nghiên cứu tối ưu hóa chiết xuất hợp chất phenolic từ vỏ chôm chôm bằng phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng (MAE). Các điều kiện tối ưu thu được là nồng độ ethanol của 80,85%, thời gian chiết là 58,39 giây cho kết quả tốt nhất. Estrada-Gil và đồng tác giả (2022) đã nghiên cứu trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng cách chiết xuất có hỗ trợ bằng sóng siêu âm/vi sóng từ vỏ chôm chôm Mexico (*Nephelium lappaceum* L.). Mendez-Flores và đồng tác giả (2018) đã nghiên cứu chiết xuất các hợp chất polyphenolic kháng oxy hóa có hỗ trợ sóng siêu âm từ vỏ *Nephelium lappaceum* L. (giống Mexico) khối lượng/thể tích 1/7, thời gian chiết siêu âm 10 phút và tỷ lệ phần trăm ethanol/nước 10%. Palanisamy và đồng tác giả (2008) đã nghiên cứu vỏ của quả chôm chôm, một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên, dung môi trích ly ethanol với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 10:1 (w/v), quá trình trích ly được thực hiện trong 24 giờ trong máy lắc ổn nhiệt. Cao chiết thu được cho hoạt tính kháng oxy hóa tương đương vitamin C và tốt hơn nhiều so với hạt nhỏ.

### NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

#### Nguyên liệu

Chôm chôm (*Nephelium lappaceum*) sử dụng trong nghiên cứu này được thu mua tại chợ trái cây ấp Mỹ Điền, xã Phú Điền, huyện Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp.

Các trang thiết bị chính sử dụng nghiên cứu: Máy đo OD (UV-Vis Jenway 7305, Anh), máy ly tâm (Z206A, Đức), máy lắc ổn nhiệt (LWB-211D, Hàn Quốc), bơm chân không (Rocker 300- Đài Loan), chạy phổ FTIR (Tensor 37, Bruker, US), bể siêu âm Elmasonic S300H (Elma – Đức), máy cô quay chân không (BUCHI I – 300 Pro, Thụy Sĩ).

Gallic acid, DPPH, Folin – Ciocalteu, ascorbic acid (Sigma Aldrich Pty. Ltd), ethanol, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetone (Trung Quốc).

### Phương pháp chuẩn bị nguyên liệu

Chôm chôm tươi, không dập nát, không hư hỏng mua tại chợ ấp Mỹ Điền, xã Phú Điền, huyện Tháp Mười, tỉnh Đồng Tháp được bóc tách lấy vỏ, rửa sạch, để ráo nước, thái nhỏ. Sau đó, sấy ở nhiệt độ 50 – 55°C trong khoảng 6 – 7 giờ cho đến khi độ ẩm đạt 5 – 6% thì kết thúc quá trình sấy. Vỏ chôm chôm sau khi sấy được đem đi xay, cho vào rây đường kính 0,06 µm, lấy phần bột mịn để đạt độ đồng nhất về mặt nguyên liệu. Để hạn chế sự oxy hóa, bột vỏ chôm chôm sau khi xay được cân 5 g bỏ vào các túi hút chân không, bảo quản lạnh sử dụng cho tất cả các thí nghiệm.

### Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol (Ainsworth, Gillespie, 2007)

Dựa vào phản ứng oxy hóa các hợp chất polyphenol bằng thuốc thử Folin – Ciocalteu, dùng acid gallic làm chất chuẩn. Phản ứng này liên quan đến việc làm giảm hàm lượng polyphenol, các hợp chất này sẽ bị oxy hóa trong môi trường kiềm dẫn đến sự hình thành các ion superoxide, các ion này sẽ lần lượt phản ứng với molybdate để hình thành dạng molybdenum oxide (Mo<sup>4+</sup>). Molybdenum oxide là dạng phức chất có màu xanh lam, hấp thụ bước sóng 760 nm. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ polyphenol trong một phạm vi nhất định. Dựa vào cường độ màu đo được và đồ thị chuẩn của acid gallic với thuốc thử có thể xác định được hàm lượng polyphenol trong mẫu.

Đối với mẫu: pha loãng mẫu 100 lần, hút 2 mL dung dịch vào từng falcon, Thêm 1 mL Folin-Ciocalteu 10%, vortex ủ trong 5 phút. Thêm 3 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2%, vortex, ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó tiến hành đo OD (UV-Vis Jenway 7305) ở bước sóng 760 nm.

$$TPC = \frac{X \times V \times F}{m \times 1000} \text{ (mg GAE/g chất khô)}$$

Trong đó: X: giá trị x từ đường chuẩn acid gallic (µg/mL), V: thể tích dịch chiết (mL), m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g), F: hệ số pha loãng, 1000 là hệ số chuyển đổi đơn vị (µg → mg)

### Khảo sát hàm lượng polyphenol của vỏ chôm chôm từ các loại chôm chôm khác nhau

Cân 5 g bột vỏ chôm chôm thái, nhãn, Java cho vào bình tam giác 250 mL. Thêm vào đó dung môi ethanol 80% với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1:10 g/mL). Tiến hành ủ mẫu trong máy lắc ổn nhiệt (LWB-211D- Hàn Quốc) ở 55°C trong 180 phút. Sau đó tiến hành ly tâm (Z206A - Đức) mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không để thu dịch. Dịch sau khi trích ly tiến hành định lượng TPC.

### Khảo sát một số loại dung môi trích ly polyphenol

Cân 5 g bột vỏ chôm chôm tối ưu từ thí nghiệm trên cho vào bình tam giác 250 mL. Thêm vào đó dung môi nước, ethanol 80%, ethanol 96% – acetone (4:1), acetone 70% với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (1:10 g/mL). Tiến hành ủ mẫu trong máy lắc ổn nhiệt ở 55°C trong 180 phút. Sau đó tiến hành ly tâm mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không (Rocker 300- Đài Loan) để thu dịch. Dịch sau khi trích ly tiến hành định lượng TPC.

### Khảo sát các phương pháp trích ly polyphenol

Nhằm tìm ra phương pháp trích ly tối ưu nhất, thí nghiệm này tiến hành khảo sát các phương pháp trích ly ngâm chiết, soxhlet, ngâm chiết kết hợp siêu âm, ngâm chiết kết hợp vi sóng.

#### Ngâm chiết

Cân 5 g bột vỏ chôm chôm cho vào bình tam giác 250 mL. Thêm vào đó vào dung môi tối ưu ở thí nghiệm trên với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1:10 g/mL). Tiến hành ủ mẫu trong máy lắc ổn nhiệt ở 55°C trong 180 phút. Sau đó tiến hành ly tâm mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không để thu dịch.

#### Chiết Soxhlet

Cân 5 g bột vỏ chôm chôm tối cho vào bình cầu. Thêm vào đó dung môi tối ưu ở thí nghiệm trên với tỷ lệ với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1:10 g/mL). Tiến hành chiết trong 4 giờ thu dịch định lượng TPC.

#### Ngâm chiết kết hợp siêu âm

Tiến hành tương tự như ngâm chiết sau đó lấy mẫu ra ngoài và cho hỗn hợp trở lại nhiệt độ phòng. Tiến hành siêu âm trong với tần số 50/60 Hz, công suất 1500 W với thời gian 30 phút, nhiệt độ 55°C. Sau đó ly tâm mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không để thu dịch.

### Ngâm chiết kết hợp vi sóng

Tiến hành tương tự như ngâm chiết sau đó lấy mẫu ra ngoài và cho hỗn hợp trở lại nhiệt độ phòng, tiến hành quay trong lò vi sóng 2 phút. Sau đó tiến hành ly tâm mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không để thu dịch.

Dịch sau khi trích ly thu được từ các phương pháp chiết tiến hành định lượng TPC.

### Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

Cân 5 g bột vỏ chôm chôm cho vào bình tam giác 250 mL. Thêm vào đó dung môi tối ưu ở thí nghiệm TN2 với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lần lượt 1:5 (g/mL), 1:10 (g/mL), 1:15 (g/mL), 1:20 (g/mL). Tiến hành ủ mẫu trong máy lắc ổn nhiệt ở 55°C trong 180 phút, lấy mẫu ra ngoài và cho hỗn hợp trở lại nhiệt độ phòng. Sau đó, tiến hành siêu âm (tối ưu TN3) trong 30 phút, nhiệt độ 55°C. Sau khi siêu âm tiến hành ly tâm mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không để thu dịch. Dịch sau khi trích ly tiến hành định lượng polyphenol tổng trong dịch.

### Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nhiệt độ siêu âm đến quá trình trích ly polyphenol

Cân 5 g bột vỏ chôm chôm cho vào bình tam giác 250 mL. Thêm vào đó dung môi và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tối ưu từ các thí nghiệm trên. Tiến hành ủ mẫu trong máy lắc ổn nhiệt ở 55°C trong 180 phút, lấy mẫu ra ngoài và cho hỗn hợp trở lại nhiệt độ phòng. Sau đó, tiến hành siêu âm với thời gian lần lượt 20 phút, 30 phút, 40 phút và 50 phút, nhiệt độ 45°C, 55°C, 65°C, 75°C. Sau khi siêu âm tiến hành ly tâm mẫu ở 4500 vòng/phút trong 10 phút và được lọc bằng bơm chân không để thu dịch. Dịch sau khi trích ly tiến hành định lượng polyphenol tổng trong dịch.

### Chạy phổ hồng ngoại FTIR

Chạy phổ FTIR (Tensor 37, Bruker, US) nhằm đánh giá sự hiện diện của polyphenol trong cao chiết

### Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

Mẫu cao chiết: pha mẫu với methanol theo các dãy nồng độ: 1000, 500, 250, 125 và 62.5 µg/mL. Ở mỗi nồng độ hút 0.1 mL dịch đã pha loãng thêm 0.1 mL DPPH. Ủ các mẫu trong 30 phút, sau đó đi đo OD (UV-Vis Jenway 7305) ở bước sóng 517 nm. Phần trăm bắt gốc tự do được tính theo công thức:

$$I (\%) = 100 \times \frac{(A_0 - A_1)}{A_0}$$

Trong đó I (%): % khử gốc tự do của mẫu ở bước sóng 517 nm; A<sub>0</sub>: Độ hấp thụ của DPPH. A<sub>1</sub>: Độ hấp thụ của mẫu khảo sát. Mẫu trắng là dung dịch methanol

Trong thí nghiệm này, ascorbic acid làm dung dịch chuẩn để so sánh với mẫu thử thông qua giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% gốc tự do). Pha ascorbic acid với nước cất theo các dãy nồng độ: 2 - 6 µg/mL. Ở mỗi nồng độ hút 0,1 mL dịch đã pha loãng thêm 0,1 mL DPPH. IC<sub>50</sub> là một giá trị dùng để đánh giá khả năng ức chế mạnh hoặc yếu của mẫu khảo sát được. Hoạt tính kháng oxy hóa càng cao thì giá trị IC<sub>50</sub> sẽ càng thấp.

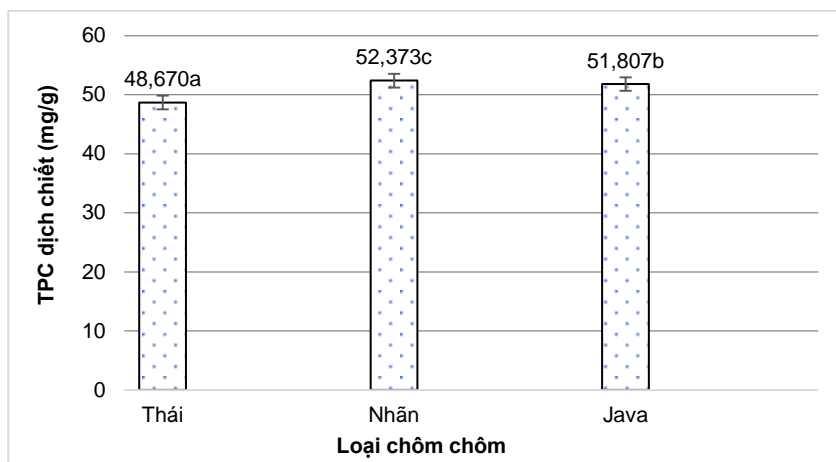
### Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm được phân tích phương sai ANOVA bằng phần mềm Stagraphic 18,0 (P < 0,05). Đồ thị được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Kết quả khảo sát hàm lượng polyphenol của các loại chôm chôm

Theo những nghiên cứu trước đây cho thấy vỏ chôm chôm là nguyên liệu chứa hợp chất có hoạt tính sinh học điển hình polyphenol (Hernández *et al.*, 2017). Tuy nhiên, các hợp chất polyphenol có thể thay đổi tùy theo điều kiện môi trường, đất đai, giống cây trồng. Vì vậy, ở thí nghiệm này khảo sát vỏ ở ba giống chôm chôm là chôm chôm Thái, chôm chôm nhãn và chôm chôm Java (chôm chôm thường loại tróc hạt) với dung môi ethanol 80%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10, nhiệt độ 55°C với thời gian 180 phút. Dịch chiết sau khi trích ly được đem đi phân tích. Kết quả thu nhận được thể hiện qua hình Hình 1.

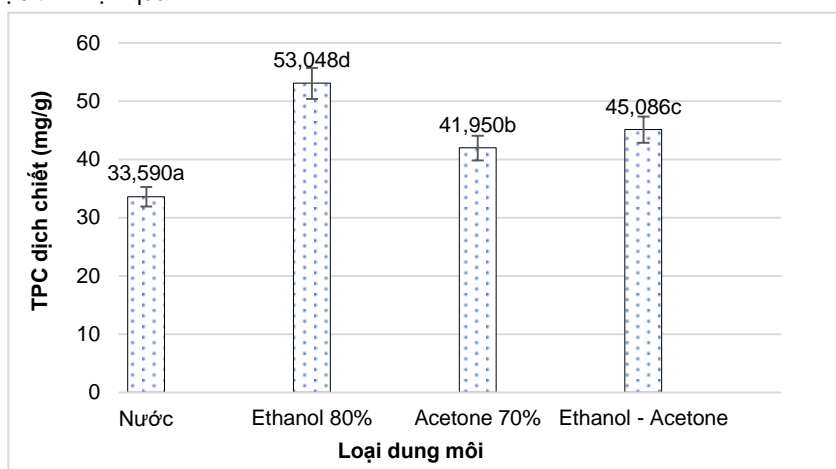

**Hình 1. TPC theo từng loại chôm chôm**

(a-c là các chữ cái thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê độ tin cậy  $p < 0,05$ )

Kết quả trên cho thấy có sự khác biệt về hàm lượng polyphenol giữa các giống chôm chôm. Hàm lượng polyphenol có trong vỏ của ba giống chôm chôm nhân, chôm chôm Thái, chôm chôm Java lần lượt là  $52,373 \pm 0,1$  mg/g,  $48,67 \pm 0,131$  mg/g và  $51,807 \pm 0,065$  mg/g. Chôm chôm nhân có hàm lượng TPC cao nhất. Điều này có thể là do điều kiện thổ nhưỡng cũng như đặc điểm của từng giống nên làm ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol và các chất khác có trong vỏ. Kết quả thu được tương tự với nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Trung Dung và đồng tác giả (2022) nhóm tác giả đã thu được hàm lượng polyphenol từ chôm chôm nhân là 199,65 mg GAE/g. Từ các kết quả trên chọn chôm chôm nhân làm nguyên liệu cho thí nghiệm tiếp theo.

#### Kết quả khảo sát một số loại dung môi trích ly polyphenol

Việc chiết xuất các hợp chất polyphenol từ nguyên liệu thực vật bị ảnh hưởng bởi độ hòa tan của các hợp chất polyphenol trong dung môi được sử dụng cho quá trình chiết. Hơn nữa sự phân cực của dung môi đóng một vai trò quan trọng trong việc tăng khả năng hòa tan các hợp chất polyphenol. Vì vậy, việc lựa chọn dung môi là một yếu tố vô cùng quan trọng trong trích ly polyphenol. Thí nghiệm này khảo sát khả năng trích ly polyphenol của các loại dung môi khác nhau như nước, ethanol 80%, acetone 70%, ethanol:acetone (4:1) với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10, nhiệt độ  $55^{\circ}\text{C}$  với thời gian 180 phút. Dịch chiết sau khi trích ly được đem đi phân tích. Kết quả thu nhận được thể hiện qua Hình 2.


**Hình 2. TPC theo từng loại dung môi**

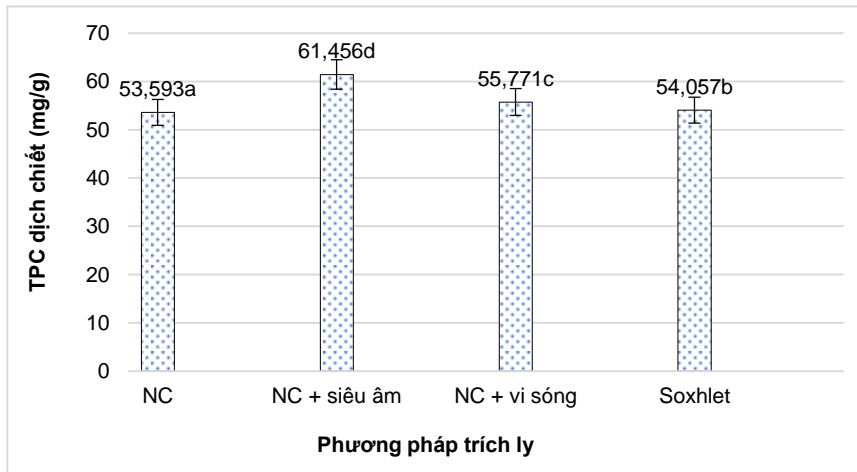
(a-d là các chữ cái thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê độ tin cậy  $p < 0,05$ )

Dựa vào kết quả thể hiện ở Hình 2 cho thấy hàm lượng polyphenol giữa các loại dung môi có sự thay đổi. TPC trong vỏ chôm chôm cao nhất khi sử dụng dung môi ethanol 80% là  $53,048 \pm 0,131$  mg/g, tiếp theo đến dung môi ethanol – acetone  $45,086 \pm 0,758$  mg/g; acetone 70% là  $41,950 \pm 0,136$  mg/g. Việc sử dụng các dung môi hữu cơ được pha theo các tỷ lệ khác nhau tạo ra một môi trường có độ phân cực vừa phải, tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất polyphenol sẽ làm tăng hiệu quả chiết. Khi sử dụng nước để chiết xuất cho hàm lượng thấp nhất  $33,591 \pm 0,082$  mg/g.

Theo nghiên cứu của Chirinos và đồng tác giả (2007) nước có độ phân cực rất cao, năng suất chiết không cao đối với các hợp chất polyphenol. Còn theo nghiên cứu của Yunusa và đồng tác giả (2018) về hàm lượng polyphenol của vỏ và hạt cho thấy hàm lượng TPC vỏ chôm chôm khi chiết bằng ethanol là  $244 \pm 4,34$  mg GAE/g cao hơn đáng kể so với nước. Trong polyphenol có chứa các vòng thơm và các nhóm -OH có khả năng phân cực. Trong 3 dung môi sử dụng thì nước có độ phân cực mạnh nhất sau đó là ethanol và yếu nhất là acetone. Bên cạnh đó ethanol còn có nhóm -OH có khả năng tạo liên kết hydrogen với polyphenol nên khả năng polyphenol hòa tan nhiều nhất trong ethanol. Do có các vòng thơm nên polyphenol khó hòa tan trong nước. Vì vậy, hiệu quả trích ly cao nhất trong ethanol. Ethanol còn được biết đến là một dung môi thân thiện với môi trường, tương đối an toàn với sức khỏe con người. Vậy dung môi ethanol 80% được sử dụng trong thí nghiệm tiếp theo.

**Kết quả khảo sát các phương pháp trích ly polyphenol**

Ở thí nghiệm này tiến hành khảo sát các phương pháp trích ly khác nhau như ngâm chiết, shoxlet, ngâm chiết kết hợp siêu âm, ngâm chiết kết hợp vi sóng với dung môi ethanol 80%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10. Hàm lượng polyphenol trong vỏ chôm chôm tách chiết với các phương pháp khác nhau được thể hiện ở Hình 3. Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol của phương pháp ngâm chiết kết hợp với siêu âm là cao nhất  $61,456 \pm 0,1$  mg/g, tiếp đến là phương pháp ngâm chiết kết hợp vi sóng  $55,771 \pm 0,164$  mg/g và phương pháp Soxhlet  $54,057 \pm 0,219$  mg/g, phương pháp ngâm chiết thông thường cho hàm lượng TPC thấp nhất  $52,242 \pm 0,1$  mg/mL.



**Hình 3. TPC của các phương pháp trích ly**

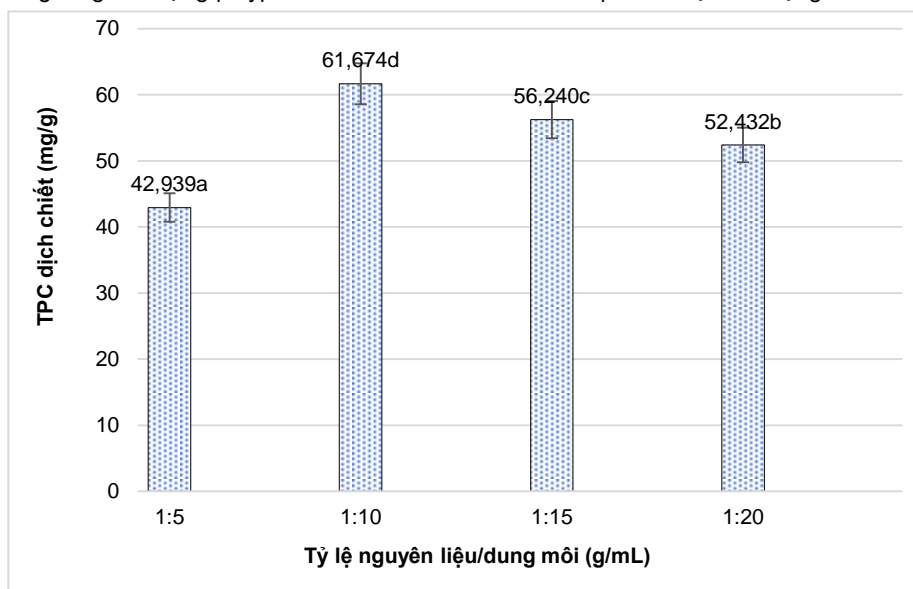
(a-d là các chữ cái thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê độ tin cậy  $p < 0,05$ )

Theo nghiên cứu của Phuong và đồng tác giả (2020) đã kết luận rằng phương pháp siêu âm giúp tăng hàm lượng polyphenol lên 15% với phương pháp chiết thông thường với tổng hàm lượng là 250 – 300 mg GAE/g. Chiết bằng Soxhlet thì thời gian chiết lâu, khó kiểm soát được nhiệt độ, tế bào ít khuếch tán nên cấu trúc tế bào phá vỡ ít, cho hàm lượng thấp, hiệu quả trích ly thấp. Phương pháp ngâm chiết kết hợp với vi sóng dưới tác dụng của sóng điện từ, các phân tử dung môi và các hợp chất phân cực (polyphenol) sẽ dao động sinh ra ma sát lớn và từ đó sản sinh ra nhiệt làm hỗn hợp chiết nóng lên, màng tế bào vỡ ra, dung môi sẽ khuếch tán vào bên trong, tăng khả năng hòa tan của các chất vào dung môi (Hà, 2006). Tuy nhiên trích ly sử dụng vi sóng gặp hạn chế khi ứng dụng vì vấn đề thiết bị, khó kiểm soát được nhiệt độ trích ly, các dung môi đạt nhiệt độ sôi nhanh và dễ gây nổ dẫn đến hiệu suất trích ly thấp. Những vấn đề này phương pháp trích ly có hỗ trợ siêu âm đã khắc phục được dù thời gian trích lâu hơn so với phương pháp có sự hỗ trợ của vi sóng. Hiệu quả trích ly polyphenol khi sử dụng sóng siêu âm tăng lên là nhờ sự tạo thành các bọt khí trong dung môi khi sóng truyền qua. Dưới tác dụng của sóng, các bọt khí bị kéo nén, sự tăng áp suất và nhiệt độ làm các bọt khí nổ vỡ, cấu trúc tế bào bị phá vỡ nhiều hơn làm tăng sự thoát nước của các chất nội bào vào dung dịch do đó tăng hiệu quả trích ly polyphenol. Vì thế, phương pháp ngâm chiết kết hợp với siêu âm được sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

**Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi**

Động lực của quá trình trích ly là do sự chênh lệch nồng độ giữa cấu tử trong nguyên liệu và dung môi. Sự vận chuyển chất tan từ bên trong tế bào thực vật ra bên ngoài dung môi qua con đường khuếch tán là chủ yếu. Sự khuếch tán này sẽ giúp cho quá trình chiết rút các cấu tử cần trích ly từ trong nguyên liệu vào dung môi xảy ra nhanh và triệt để hơn. Do đó, lượng dung môi khác nhau sẽ dẫn đến hàm lượng chất tan được chiết rút ra từ nguyên liệu là khác nhau (Nguyễn Thị Tuyết, Trần Thị Duyên, 2020). Vì vậy, thí nghiệm này thực hiện với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lần lượt là lần lượt 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 (g/mL) bằng phương pháp siêu âm (kết quả tối ưu

từ thí nghiệm trên), nhiệt độ 55°C, thời gian 30 phút. Kết quả thu nhận được thể hiện qua Hình 4. Hàm lượng polyphenol ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:5 thấp nhất  $42,939 \pm 0,091$  mg/g. Nhưng khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ở các tỷ lệ 1:10; 1:15; 1:20 thì TPC có xu hướng giảm. Nguyên nhân của sự thay đổi trên là do khi lượng dung môi quá ít (ở tỷ lệ 1:5) không đủ để hòa tan và khuếch tán polyphenol ra khỏi tế bào. Khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì hàm lượng polyphenol tăng (1:10) do tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đạt đến giá trị nhất định, các tế bào có khả năng hấp thụ nhanh chóng, trương nở tối đa và vỡ ra đồng thời hòa tan triệt để polyphenol nên lượng polyphenol cao nhất. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng lượng dung môi (1:15 và 1:20) làm hiệu quả trích ly polyphenol không tăng do lượng polyphenol đã hòa tan tối đa và các pha đã đạt đến trạng thái cân bằng.



Hình 4. TPC theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

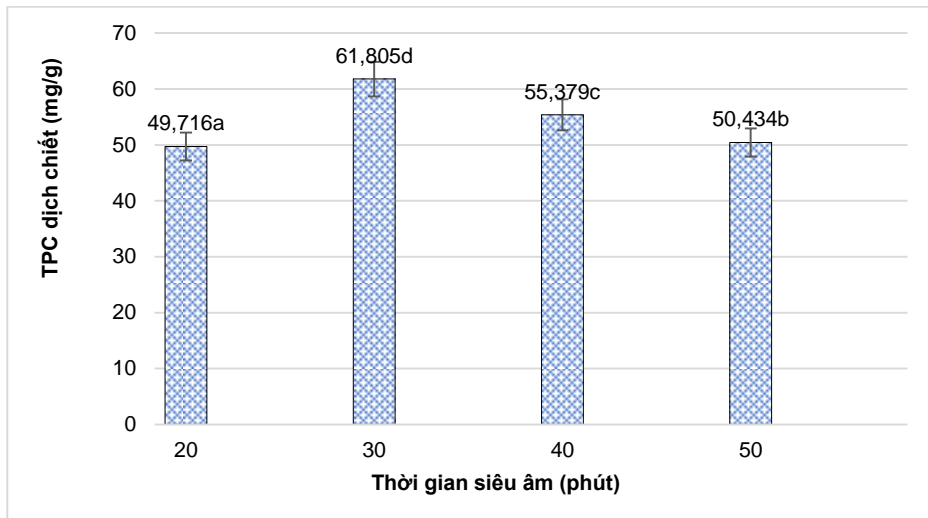
(a-d là các chữ cái thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê độ tin cậy  $p < 0,05$ )

Theo Hernández và đồng tác giả (2017) khi nghiên cứu xác định hàm lượng polyphenolic, hoạt tính kháng oxy hóa và thành phần hóa học từ vỏ chôm chôm đã sử dụng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 để chiết xuất polyphenol, thu được hàm lượng polyphenolic cao nhất. Còn theo nghiên cứu của Prakash Maran và đồng tác giả (2013) tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:18,6 g/mL. Cùng với thí nghiệm thực tế tỷ lệ 1:10 cho hàm lượng polyphenol cao nhất và tỷ lệ này được sử dụng ở các thí nghiệm sau.

#### Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến quá trình trích ly polyphenol

Trong quá trình trích ly các hợp chất polyphenol, thời gian chiết kéo dài có thể dẫn đến sự phân hủy của polyphenol, làm giảm hoạt tính sinh học. Ở thí nghiệm này, thực hiện với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:10 (tối ưu từ thí nghiệm trên), thời gian siêu âm 20, 30, 40, 50 phút ở nhiệt độ 55°C, kết quả được trình bày ở Hình 5.

Kết quả cho thấy khi tăng thời gian siêu âm thì hàm lượng TPC tăng dần rồi giảm. Hàm lượng polyphenol siêu âm ở thời gian 20 phút là  $49,716 \pm 0,131$  mg/g, TPC tăng lên ở thời gian siêu âm 30 phút  $61,805 \pm 0,113$  mg/g nhưng lại giảm dần khi thời gian siêu âm 40 và 50 phút với TPC lần lượt là  $55,379 \pm 0,42$  mg/g,  $50,434 \pm 0,113$  mg/g. Khi kéo dài thời gian siêu âm, kéo theo sự gia tăng hiệu suất trích ly, nhưng không nên kéo dài vì điều này sẽ làm giảm hiệu suất trích ly bởi vì sóng siêu âm sẽ tác động đến cấu trúc của polyphenol. Bên cạnh đó, siêu âm càng lâu, nhiệt độ của dịch siêu âm sẽ tăng lên gây biến tính polyphenol làm cho hàm lượng giảm xuống. Kết quả nghiên cứu khá tương đồng với nghiên cứu của Prakash Maran và đồng tác giả (2013) đã tối ưu hóa hỗ trợ siêu âm chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học từ vỏ quả chôm chôm bằng phương pháp bề mặt đáp ứng theo mô hình CCD đã kết luận rằng thời gian chiết siêu âm là 20 phút với công suất 20W thu được hàm lượng polyphenol cao nhất.

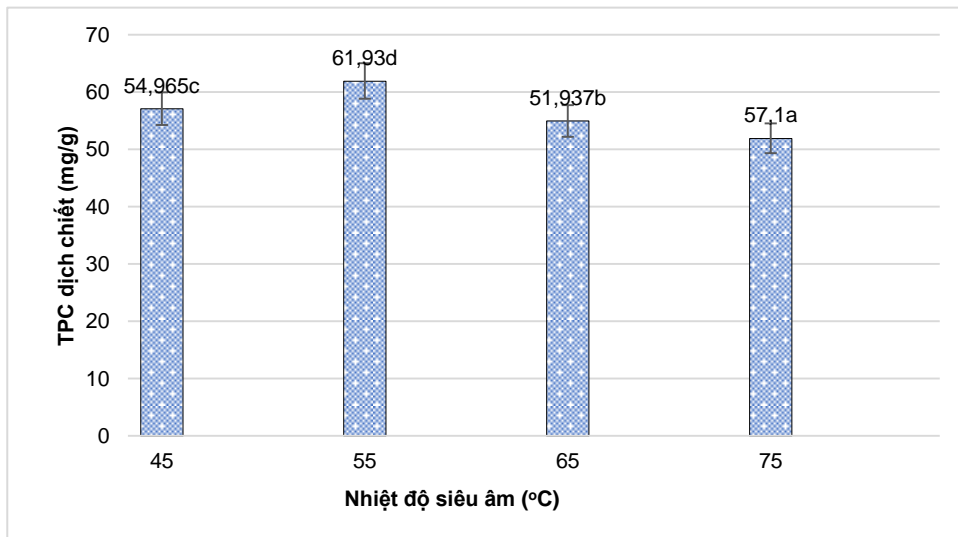


Hình 5. TPC theo thời gian siêu âm

(a-d là các chữ cái thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê độ tin cậy  $p < 0,05$ )

### Ảnh hưởng của nhiệt độ siêu âm đến quá trình trích ly polyphenol

Bên cạnh việc khảo sát ảnh hưởng của thời gian siêu âm, nghiên cứu cũng đã khảo sát thêm về ảnh hưởng của nhiệt độ siêu âm đến quá trình chiết. Thí nghiệm này được khảo sát ở các nhiệt độ 45÷75°C với thời gian siêu âm 30 phút (tối ưu từ thí nghiệm trên) thu được kết quả ở Hình 6.



Hình 6. TPC theo nhiệt độ siêu âm

(a-d là các chữ cái thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê độ tin cậy  $p < 0,05$ )

Từ kết quả ở Hình 6 cho thấy các nhiệt độ siêu âm khác nhau hàm lượng polyphenol thu được có sự khác biệt. Khi tăng nhiệt độ siêu âm từ 45 lên 55°C thì TPC cũng tăng. Cụ thể hàm lượng polyphenol trong dịch chiết tăng từ  $57,1 \pm 0,065$  mg/g lên  $61,93 \pm 0,168$  mg/g. Nguyên nhân là do khi tăng nhiệt độ, vách tế bào của bột chôm chôm sẽ mềm dần, dung môi dễ thẩm thấu vào bên trong. Bên cạnh đó, nhiệt độ tăng lên cũng góp phần làm giảm độ nhớt của dung môi cũng như tăng quá trình tiếp xúc giữa dung môi và nguyên liệu nên lượng polyphenol tăng. Mặt khác, nhiệt giúp cho quá trình trích ly dễ dàng bằng cách phá hủy màng tế bào bởi việc làm biến tính màng tế bào và các bọt khí tạo thành, nó làm tăng khả năng hoà tan của bột cần trích ly. Nhiệt độ trích ly thấp quá hàm lượng TPC không cao vì polyphenol trong bã còn nhiều (Phạm Ngọc Khôi Khôi, Nguyễn Thị Mỹ Duyên, 2017). Khi tăng nhiệt độ từ 55°C lên 75°C, hàm lượng polyphenol giảm từ  $61,93 \pm 0,168$  mg/g xuống còn  $51,937 \pm 0,261$  mg/g. Vì nhiệt độ tăng cao làm cho các hợp chất polyphenol trong nguyên liệu bị phân hủy do các phản ứng thủy phân, oxy hóa nội tại và polymer hóa. Đồng thời sinh ra một số hợp chất không mong muốn (Nguyễn Hải Hà, 2006). Bên cạnh đó nhiệt độ quá cao sẽ làm biến tính và giảm hiệu quả trích ly.

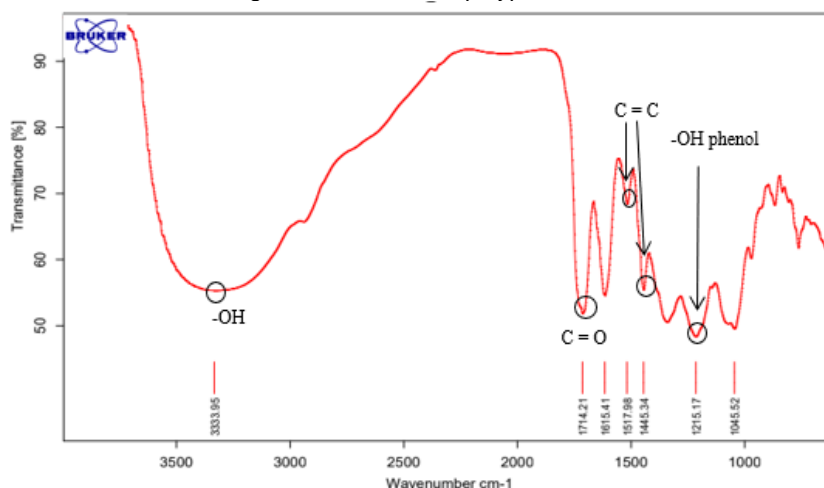
Theo Gusma và Tsai (2015) đã tiến hành khảo sát nhiệt độ siêu âm kết quả cho thấy rằng siêu âm ở nhiệt độ 50°C cho kết quả thu hồi polyphenol cao nhất. Bên cạnh đó, Phuong và đồng tác giả (2020) đã sử dụng nhiệt độ siêu âm là 40°C để hỗ trợ ngâm chiết tốt nhất.

### Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Sau khi đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm tiến hành xây dựng được biểu đồ hồi quy tuyến tính thể hiện khả năng bắt gốc tự do (DPPH) của acid ascorbic là  $y = 15,652x - 19,919$  ( $R^2 = 0,9932$ ), giá trị  $IC_{50} = 4,467 \mu\text{g/mL}$ , cao chiết vỏ chôm chôm là  $y = 0,0324x + 49,767$  ( $R^2 = 0,9977$ ), giá trị  $IC_{50} = 7.191 \mu\text{g/mL}$ . Như vậy,  $IC_{50}$  của cao chiết cao hơn của vitamin C 1,610 lần. Có thể kết luận, cao chiết vỏ chôm chôm có khả năng kháng oxy hóa khá tốt nhưng thấp hơn acid ascorbic. Theo nghiên cứu của Perera và đồng tác giả (2021) đã nghiên cứu trích ly polyphenol từ vỏ chôm chôm của vùng Sri Lanka bằng phương pháp soxlet thu được kết quả  $IC_{50}$  của phương pháp ngâm chiết bằng ethanol là  $8,31 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$ . Bên cạnh đó, Thitilertdecha và đồng tác giả (2008) hoạt tính kháng oxy hóa của chiết xuất vỏ chôm chôm thu được kết quả  $IC_{50}$  của phương pháp ngâm chiết bằng ethanol là,  $4,94 \mu\text{g/mL}$ . Như vậy, kết quả nghiên cứu khá tương đồng với 2 nghiên cứu trên khi sử dụng dung môi trích ly là ethanol, có thể phương pháp trích ly khác nhau.

### Kết quả quét phổ hồng ngoại FTIR

Kết quả chạy phổ FTIR của mẫu cao chiết thể hiện hình 7. Trục tung thể hiện cường độ hấp thụ của các mũi phổ, trục hoành là vị trí các mũi hấp thụ được biểu diễn dưới dạng số sóng ( $\text{cm}^{-1}$ ). Polyphenol có cấu trúc phức tạp gồm các vòng benzenoid thơm ( $\text{C} = \text{C}$ ,  $\text{C} = \text{O}$ ) gắn với nhóm hydroxyl ( $-\text{OH}$ ). Theo nghiên cứu của Jantapaso và Mittraparp-Arthorn (2022) về thành phần hóa học thực vật và hoạt tính sinh học của nước chiết xuất từ quả chôm chôm (*Nephelium lappaceum* L. cv. Rong Rian), nhóm tác giả đã cho thấy phổ FTIR của polyphenol được thể hiện bởi peak 1446 và  $1524 \text{ cm}^{-1}$  đại diện nhóm  $\text{C} = \text{C}$  và peak  $1708 \text{ cm}^{-1}$  đại diện cho nhóm  $\text{C} = \text{O}$  của vòng thơm – đặc trưng của polyphenol. Đỉnh ở  $1217 \text{ cm}^{-1}$  xác nhận sự hiện diện của nhóm hydroxyl của polyphenol. Nhóm chức đặc trưng của nước có peak tại đỉnh  $3412 \text{ cm}^{-1}$ . Phổ FTIR của mẫu cao chiết polyphenol được thể hiện bởi peak 1445,34 và  $1517,98 \text{ cm}^{-1}$  đại diện nhóm  $\text{C} = \text{C}$  và peak  $1714,21 \text{ cm}^{-1}$  đại diện cho nhóm  $\text{C} = \text{O}$  của vòng thơm – đặc trưng của polyphenol. Đỉnh ở  $1215,17 \text{ cm}^{-1}$  xác nhận sự hiện diện của nhóm hydroxyl của polyphenol. Một đỉnh kéo dài ở peak  $3333,95 \text{ cm}^{-1}$  cho thấy sự có mặt của nhóm chức  $\text{O}-\text{H}$ . Kết quả phổ FTIR của mẫu polyphenol từ cao chiết chôm chôm có xuất hiện các peak gần tương đồng với các phổ chuẩn của bài báo đối chứng. Bên cạnh đó, trong nghiên cứu của Mendez-Flores và đồng tác giả (2018) về chiết xuất các hợp chất polyphenolic chống oxy hoá có hỗ trợ sóng siêu âm từ vỏ *Nephelium lappaceum* L. (giống Mexico) và của Monrroy và đồng tác giả (2020) nghiên cứu xác định hợp chất có hoạt tính sinh học trong chiết xuất vỏ chôm chôm và đánh giá khả năng kháng oxy, cũng cho thấy ở kết quả chạy phổ FTIR đã cho ra các dải peak tương đồng với phổ FTIR của mẫu. Do đó trong cao chiết có chứa polyphenol.



Hình 7. Kết quả chạy phổ FTIR của cao chiết polyphenol từ vỏ chôm chôm

### KẾT LUẬN

Khảo sát 3 loại chôm chôm: Thái, nhãn, Java cho kết quả thu nhận được chôm chôm nhãn cho hàm lượng polyphenol cao nhất là 52,373 mg/g. Sử dụng ethanol 80% để trích ly bằng phương pháp ngâm chiết kết hợp với siêu âm thu, tỷ lệ trích ly giữa nguyên liệu và dung môi tốt nhất là 1:10 (w/v), thời gian siêu âm tốt nhất là 30 phút và nhiệt độ siêu âm tốt nhất là 55°C cho 61,93 mg/g. Cao chiết có khả năng kháng oxy hóa tốt,  $IC_{50} = 7,191 \mu\text{g/mL}$ .

**Lời cảm ơn:** Cảm ơn sự hỗ trợ của sinh viên Trần Kiều Vĩ. Đồng thời cảm ơn trường Đại học Công thương Tp.HCM đã hỗ trợ trang thiết bị thực hiện nghiên cứu này.



**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Ainsworth EA, Gillespie KM (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(4): 875-877.
- Chirinos R, Rogez H, Campos D, Pedreschi R, Larondelle Y (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Separation Purification Technology*, 55(2): 217-225.
- Estrada-Gil L, Contreras-Esquivel JC, Flores-Gallegos C, Zugasti-Cruz A, Govea-Salas M, Mata-Gómez MA, & Ascacio-Valdés JA (2022). Recovery of bioactive Ellagitannins by ultrasound/microwave-assisted extraction from Mexican Rambutan Peel (*Nephelium lappaceum* L.). *Molecules*, 27(5): 1592-1611.
- Gusman JA, Tsai PJ (2015). Extraction of antioxidant compounds from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel as agricultural waste in Taiwan. *Journal of Tropical Crop Science*, 2(2): 1011-1019.
- Hernández C, Ascacio-Valdés J, De la Garza H, Wong-Paz J, Aguilar CN, Martínez-Avila GC, & Aguilera-Carbó A (2017). Polyphenolic content, *in vitro* antioxidant activity and chemical composition of extract from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican rambutan) husk. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 10(12): 1201-1205.
- Huỳnh Ngọc Trung Dung, Hà Đăng Huy, Nguyễn Ngọc An, Nguyễn Phú Quý, Phạm Đoàn Vi (2022). Khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính sinh học của cao chiết từ vỏ chôm chôm (*Nephelium lappaceum* L.). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 58: 74-82.
- Jantapaso H, Mittraparp-Arthorn P (2022). Phytochemical composition and bioactivities of aqueous extract of rambutan (*Nephelium lappaceum* L. cv. Rong Rian) peel. *Antioxidants*, 11(5): 956-1005.
- Mendez-Flores A, Hernández-Almanza A, Sáenz-Galindo A, Morlett-Chávez J, Aguilar CN, & Ascacio-Valdés J (2018). Ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican variety) husk. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 11(12): 676-681.
- Monrroy M, Araúz O, García JR (2020). Active compound identification in extracts of *N. lappaceum* peel and evaluation of antioxidant capacity. *Journal of Chemistry*, 2020(1): 4301891.
- Nguyễn Hải Hà (2006). Nghiên cứu trích ly Polyphenol từ trà *Camellia sinensis* (L.). *Luận văn tốt nghiệp cao học. Trường Đại học Bách khoa Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*.
- Nguyễn Thị Tuyết, Trần Thị Duyên (2020). Nghiên cứu quy trình chiết tách chất màu tự nhiên từ hoa đậu biếc (*CLITORIA TERNATEAN*) và ứng dụng trong chế biến một số thực phẩm. *Đề tài nghiên cứu khoa học. Trường Đại học Bà Rịa Vũng Tàu*
- Palanisamy U, Cheng HM, Masilamani T, Subramaniam T, Ling LT, & Radhakrishnan AK (2008). Rind of the rambutan, *Nephelium lappaceum*, a potential source of natural antioxidants. *Food Chemistry*, 109(1): 54-63.
- Perera MPJ, Binuwangi AKDM, Silva AAG, Attanayake RN, Wickramarachchi SR, & Rajapakse CSK (2021). Antioxidant activity and chemical constituents of methanolic extract of *Durio zibethinus* Murr. (durian) peels. *Medicinal plants-international journal of phytomedicines related industries*, 13(2): 275-282.
- Phạm Ngọc Khôi Khôi, Nguyễn Thị Mỹ Duyên (2017). Khảo sát điều kiện tách chiết và hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của hợp chất poliphenol từ vỏ thân cây quao nước (*Dolichandrone spathacea*). *Tạp chí Khoa học*, 14(12): 181-190.
- Phuong NNM, Le TT, Dang MQ, Van Camp J, Raes K (2020). Selection of extraction conditions of phenolic compounds from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel. *Food Bioproducts Processing*, 122 (2): 222-229.
- Prakash Maran J, Sivakumar V, Thirugnanasambandham K, Sridhar R (2014). Extraction, multi-response analysis, and optimization of biologically active phenolic compounds from the pulp of Indian jamun fruit. *Food Science Biotechnology*, 23 (2): 9-14.
- Rakariyatham K, Zhou D, Rakariyatham N, Shahidi F (2020). Sapindaceae (*Dimocarpus longan* and *Nephelium lappaceum*) seed and peel by-products: Potential sources for phenolic compounds and use as functional ingredients in food and health applications. *Journal of Functional Foods*, 67(2): 103846.
- Sun L, Zhang H, Zhuang Y (2012). Preparation of free, soluble conjugate, and insoluble-bound phenolic compounds from peels of rambutan (*Nephelium lappaceum*) and evaluation of antioxidant activities *in vitro*. *Journal of Food Science*, 77(2): C198-C204.
- Thitilertdech N, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N (2008). Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT-Food Science*, 41(10): 2029-2035.
- Yunusa AK, Abdullahi N, Rilwan A, Abdulkadir AR, Dandago MA (2018). DPPH radical scavenging activity and total phenolic content of rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel and seed. *Annals: Food Science & Technology*, 19(4): 220-228.

## INVESTIGATION OF THE EXTRACTION CONDITIONS OF POLYPHENOL FROM RAMBUTAN FRUIT (*Nephelium lappaceum*) AND THE EVALUATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY OF THE EXTRACT

Do Thi Hien<sup>1\*</sup>

*Ho Chi Minh City University of Industry and Trade*

### SUMMARY

Rambutan is one kind of popular fruits, peels and seeds which contains lots of biologically active compounds. Among those, polyphenol is one of typical ingredients of rambutan peels. To effectively use of peel by-products, researchs should be done to extract polyphenols from rambutan peels. This study investigated the peels of Thai rambutan, longan rambutan, and Java rambutan to select the peels containing the highest polyphenols. Next we investigated the types of extraction solvents including pure water, 80% ethanol, 96% ethanol - acetone (4:1), and 70% acetone as well as extraction methods such as conventional extraction, soxhlet, and combination extraction methods with ultrasounds or microwaves assisted. Also, we investigated the ratios of raw materials and solvents, which were 1:5, 1:10, 1:15, and 1:20 (g/mL) respectively. The ultrasound time in 20, 30, 40 and 50 minutes and the ultrasound temperature at 45-75°C with the frequency at 50/60 Hz were inspected as well. The best results showed that the highest polyphenol content was extracted from the longan rambutan peels under following conditions: the extraction method was the one with ultrasound combined, the concentration of solvent was 80% ethanol, the ratio of solvent and materials was 1:10 (w/v), and the conducted time of ultrasound was 30 minutes and the temperature at 55°C. Under these conditions, the TPC (total polyphenol content) was found to be highest as 61.93 mg/g of raw material. Evaluation of the IC<sub>50</sub> antioxidant activity of the extract (7,191 µg/mL) was lower than ascorbic acid. The results of FTIR spectroscopy of the extract showed the appearance of specific functional groups of polyphenol. As a result, it could be concluded that polyphenols have been successfully extracted from rambutan peels by conventional extraction method with ultrasonic-assisted combination. In addition, the investigation of antibacterial ability should be done more for further application.

*Keywords:* DPPH antioxidant activity, extraction solvents, polyphenol, Rambutan, ultrasound-assisted extraction.

---

\* Author for correspondence: Tel: 0985958605; Email: hientd@huit.edu.vn