

# ẢNH HƯỞNG CỦA XỬ LÝ SIÊU ÂM ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY HỢP CHẤT POLYPHENOL VÀ ANTHOCYANIN TỪ VỎ CHANH DÂY (*Passiflora incarnate*)

Nguyễn Đình Dũng<sup>1,2</sup>, Vũ Thị Hương<sup>1</sup>,  
Lê Trung Thiên<sup>2\*</sup>, Hoàng Quang Bình<sup>2</sup>, Hồ Nam Chiến<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

<sup>2</sup>Trường Đại học Nông lâm TP.HCM

\*Email: le.trungthien@hcmuaf.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/10/2018; Ngày chấp nhận đăng: 05/12/2018

## TÓM TẮT

Vỏ chanh dây được tách từ quả chanh dây trong quá trình chế biến và là phụ phẩm của ngành công nghiệp sản xuất thực phẩm. Nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của xử lý siêu âm đến hiệu quả thu nhận hợp chất polyphenol và anthocyanin từ vỏ chanh dây tím. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly bao gồm: loại dung môi, tỷ lệ dung môi/nước, thời gian siêu âm, mật độ năng lượng siêu âm và tỷ lệ nguyên liệu/hệ dung môi. Hàm lượng polyphenol được xác định bằng phương pháp so màu, hàm lượng anthocyanin được xác định bằng phương pháp pH vi sai. Kết quả cho thấy, dung môi trích ly ethanol, tỷ lệ ethanol/nước là 75/25 (v/v), thời gian siêu âm 10 phút, mật độ năng lượng siêu âm 1,5 (W/g), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 (g/mL) cho hàm lượng polyphenol và anthocyanin đạt cao nhất lần lượt là 13,41 (mg GAE/g DW) và 3,59 (mg/g DW). Kết quả nghiên cứu này sẽ cung cấp các thông tin một cách có hệ thống về các yếu tố ảnh hưởng trong quá trình trích ly polyphenol và anthocyanin, nâng cao giá trị của quả chanh dây tím và giảm ô nhiễm môi trường do vỏ chanh dây tím gây ra.

*Từ khóa:* Chanh dây, *Passiflora incarnate*, polyphenol, anthocyanin, siêu âm.

## 1. MỞ ĐẦU

Chanh dây là một loại cây dễ trồng và được trồng ở nhiều nước khác nhau. Chanh dây chứa nhiều vitamin, acid amin, khoáng chất và có hương thơm rất đặc trưng nên được ưa chuộng khắp nơi trên thế giới và Việt Nam. Hiện nay, loại quả này chủ yếu được tiêu thụ trong nước dưới dạng quả tươi, nước ép hoặc bột chanh dây và có tiềm năng xuất khẩu sang một số nước lân cận. Thành phần chủ yếu trong vỏ chanh dây là chất xơ không hòa tan và đặc biệt có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, có khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn như tannin và polyphenol tổng [1]. Tuy nhiên, nguồn phụ phẩm này chưa được tận dụng trong công nghiệp thực phẩm mà mới chỉ được xử lý làm phân bón, thức ăn gia súc hoặc thải ra ngoài môi trường.

Các hợp chất polyphenol và anthocyanin có nhiều trong thực vật và đóng vai trò hết sức quan trọng như tạo màu sắc đặc trưng, bảo vệ thực vật khỏi những tác nhân xâm hại của côn trùng, bảo vệ lục lạp khỏi tác động bất lợi của ánh sáng, sự oxy hóa và tác dụng của tia cực tím. Về y học, polyphenol và anthocyanin là một trong những hợp chất tự nhiên có nhiều tác dụng như chống oxy hóa mạnh, hoặc chống oxy hóa các sản phẩm thực phẩm, hạn chế sự

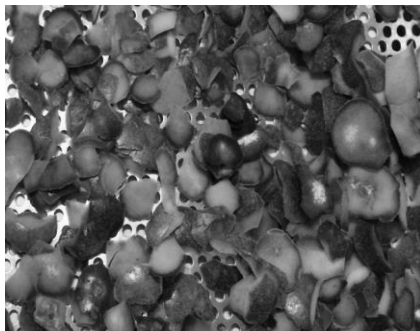
suy giảm sức đề kháng, kháng viêm, kháng khuẩn, chống dị ứng, chống lão hóa và một số bệnh liên quan đến ung thư [2-4].

Quá trình trích ly các hợp chất kháng oxy hóa từ thực vật bằng phương pháp truyền thống thường tốn nhiều thời gian nhưng hiệu suất thu hồi không cao. Để nâng cao hiệu suất trích ly các hợp chất kháng oxy hóa, nhiều nghiên cứu đã sử dụng các phương pháp trích ly truyền thống có sóng siêu âm hỗ trợ. Phương pháp này có ưu điểm vượt trội như thời gian trích ly ngắn, dễ thực hiện, không gây ô nhiễm môi trường. Kỹ thuật siêu âm đã ứng dụng rộng rãi trên nhiều nguyên liệu để thu nhận polyphenol và anthocyanin như vỏ nho, quả việt quất, cải bắp đỏ [5-7]. Tuy nhiên, việc xử lý siêu âm trích polyphenol và anthocyanin từ vỏ chanh dây tím chưa được nghiên cứu. Vì vậy, nghiên cứu này tiến hành khảo sát và đánh giá tác động của sóng siêu âm đến khả năng trích ly các hợp chất polyphenol và anthocyanin trong vỏ chanh dây tím. Nghiên cứu tập trung khảo sát các yếu tố công nghệ như: Loại dung môi, tỷ lệ dung môi/nước, thời gian siêu âm, mật độ năng lượng siêu âm. Từ đó, tạo cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu các điều kiện tối ưu quá trình trích ly polyphenol và anthocyanin có sự hỗ trợ của sóng siêu âm nhằm nâng cao giá trị của quả chanh dây tím và giảm ô nhiễm môi trường do vỏ chanh dây tím gây ra.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu chính: Vỏ chanh dây tím (Hình 1) được tách ra từ quả chanh dây tím (*Passiflora incarnate*) trồng tại Việt Nam, làm sạch, sấy khô đến độ ẩm 10%, nghiền, rây đạt kích thước từ  $\leq 2$  mm.



Hình 1. Vỏ chanh dây tím

Hóa chất: Ethanol, methanol, acetone, HCl, KCl, natri acetat, thuốc thử Folin-Ciocalteu 0,1N,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% (Xilong, Trung Quốc), acid gallic (Sigma), nước cất 2 lần.

Thiết bị: Máy siêu âm UP100H (Hielscher, Đức), máy sấy đối lưu (Trường Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh), máy hấp thu quang phổ V730 (Jasco, Nhật Bản), máy ly tâm Z206A (Hermale, Đức).

Các dụng cụ: Bình tam giác, bình định mức, nhiệt kế, pipet...

### 2.2. Quy trình trích ly

Cân 1,5 g bột chanh dây khô (độ ẩm 10%) cho vào cốc thủy tinh 100 mL, bổ sung 30 mL dung môi, trích ly ở nhiệt độ thường. Các yếu tố khảo sát bao gồm: loại dung môi, tỷ lệ dung môi/nước, thời gian siêu âm, mật độ năng lượng siêu âm, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

thay đổi theo từng thí nghiệm. Sau khi trích, hỗn hợp sẽ được ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong thời gian 5 phút bằng thiết bị ly tâm. Sau đó, tiến hành lọc bằng giấy lọc để loại bỏ phần bã còn lẫn trong dịch chiết và xác định hàm lượng polyphenol và anthocyanin.

## **2.2. Bố trí thí nghiệm**

Trong nghiên cứu này, các yếu tố được khảo sát bằng phương pháp đơn yếu tố. 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. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Chỉ tiêu đánh giá lượng polyphenol và anthocyanin có trong dịch trích. Các yếu tố được khảo sát là:

- Khảo sát ảnh hưởng của dung môi: Loại dung môi (methanol/nước, ethanol/nước, acetone/nước (tỷ lệ 1:1) và nước) và tỷ lệ dung môi/nước (25/75, 50/50, 75/25, 100/0 (v/v)). Các thí nghiệm thực hiện tại nhiệt độ phòng, thời gian 60 phút và khuấy với tốc độ 60 vòng/phút.

- Khảo sát ảnh hưởng của xử lý siêu âm: thời gian siêu âm (5-20 phút, bước nhảy 5 phút), mật độ năng lượng siêu âm (1-2,5 W/g, bước nhảy 0,5 W/g), tỷ lệ nguyên liệu/hệ dung môi (1:10; 1:15; 1:20; 1:25; 1:30 (g/mL)). Các thí nghiệm thực hiện tại nhiệt độ phòng.

## **2.3. Phương pháp phân tích**

### *2.3.1. Phương pháp phân tích hàm lượng polyphenol tổng số*

Hàm lượng polyphenol tổng số của dịch chiết được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (Singleton và Rossi, 1965) [8], cụ thể như sau:

Lấy 1 mL mẫu đã được pha loãng thêm vào 2,5 mL dung dịch Folin-Ciocalteu 0,1N, chờ 4 phút. Sau đó, thêm 2 mL dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%. Sau khi ủ ở nhiệt độ phòng (23-25 °C) trong 120 phút, độ hấp thụ của hỗn hợp được đo bằng máy quang phổ V730 (Jasco, Nhật Bản) tại bước sóng 760 nm. Acid galic được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và kết quả được biểu thị bằng mg acid galic tương đương lượng acid galic (GEA) trên 1 g chất khô (mg GEA/g DW).

### *2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng anthocyanin*

*Hàm lượng anthocyanin của dịch chiết được xác định bằng phương pháp pH vi sai [9].*

- Tại pH 1, các anthocyanin tồn tại ở dạng oxonium hoặc flavylum có độ hấp thụ cực đại.  
- Tại pH 4,5 chúng ở dạng carbinol không màu. Đo độ hấp thụ cực đại của 2 mẫu ở pH 1 và pH 4,5 tại bước sóng của độ hấp thụ cực đại 515 nm, so với độ hấp thụ tại bước sóng 700 nm (độ đục của mẫu).

Lượng anthocyanin theo % chất khô được tính bằng công thức

$$C(mg/g DW) = \frac{A \cdot M \cdot k \cdot V}{\epsilon \cdot l \cdot m \cdot (100 - W) \cdot 10^{-2}} \times 100\%$$

Trong đó:

A: độ hấp thụ của anthocyanin (đơn vị Abs)

$$A = (A_{520(pH 1)} - A_{700(pH 1)}) - (A_{520(pH 4,5)} - A_{700(pH 4,5)})$$

với: A<sub>520(pH 1; pH 4,5)</sub>: Độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 520 nm ở pH 1 và pH 4,5.

A<sub>700(pH 1; pH 4,5)</sub>: Độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 700 nm ở pH 1 và pH 4,5.

a: Hàm lượng anthocyanin (mg/L).

M: Khối lượng phân tử của anthocyanin, được biểu diễn qua cyanidin 3-glucoside (449,2 g/mol),

$\epsilon$ : Hệ số hấp thụ phân tử ( $25.740 \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  tại  $\lambda = 520 \text{ nm}$ ),

l: Chiều dày cuvet (1 cm),

V: Thể tích dịch chiết (L),

k: Độ pha loãng (5, 10, 20, ...),

m: khối lượng mẫu phân tích (g),

W: Độ ẩm của mẫu (%).

## 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần để đảm bảo tiến hành phân tích Anova. Số liệu được phân tích Anova bằng phần mềm xử lý số liệu thống kê chuyên dụng JMP 10.0. Kiểm định Student's được thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa  $p < 0,05$ .

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của các loại dung môi đến lượng polyphenol và anthocyanin thu được

Trong kỹ thuật trích ly rắn – lỏng, việc lựa chọn dung môi phù hợp là rất quan trọng, có tính chất quyết định đến hiệu suất quá trình trích ly. Hiệu suất của quá trình trích ly phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi và bản chất của hợp chất cần trích ly. Polyphenol và anthocyanin vốn có các gốc hydrocarbon kỵ nước, chỉ tan tốt trong các dung môi hữu cơ, tuy nhiên nó lại có các nhóm chức polyphenol phân cực tan tốt trong dung môi phân cực. Do đó, chiết polyphenol và anthocyanin phải dùng hệ dung môi gồm: dung môi hữu cơ và một chất phân cực (thường là nước). Ở khảo sát này, các dung môi gồm: methanol/nước; acetone/nước; ethanol/ nước (v/v) với tỷ lệ 50/50 và nước được lựa chọn để trích ly. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hệ dung môi đến lượng polyphenol và anthocyanin được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hệ dung môi đến hàm lượng polyphenol và anthocyanin

Loại dung môi	Lượng polyphenol (mgGAE/g DW)	Lượng anthocyanin (mg/g DW)
Methanol/nước (50/50)	$17,23^a \pm 0,035$	$2,38^b \pm 0,067$
Ethanol/nước (50/50)	$17,25^a \pm 0,028$	$2,59^a \pm 0,062$
Acetol/nước (50/50)	$17,28^a \pm 0,056$	$2,65^a \pm 0,060$
Nước	$12,05^b \pm 0,017$	$1,49^c \pm 0,095$

*a, b, c: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.*

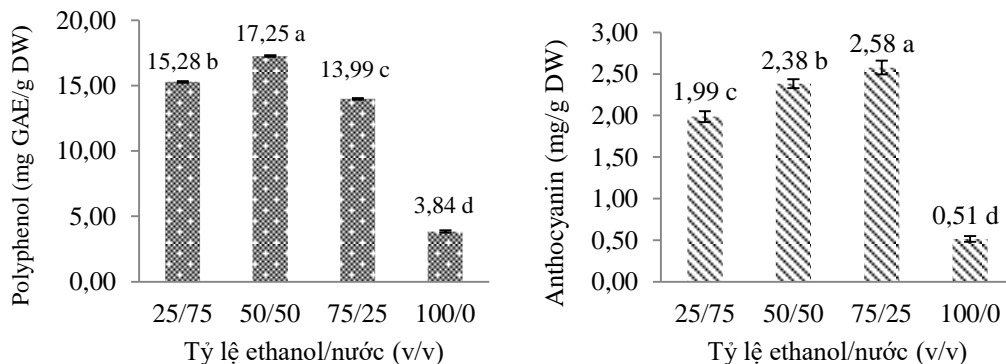
Kết quả cho thấy, khi trích ly nguyên liệu trong cùng một điều kiện thời gian, nhiệt độ thì lượng polyphenol trích ly thu được khi sử dụng 3 hệ dung môi methanol/nước, ethanol/nước, acetol/nước cao hơn dung môi nước và khác biệt không có ý nghĩa thống kê trong khoảng tin cậy 95%. Trong khi đó, lượng polyphenol thu được từ quá trình trích ly sử dụng dung môi nước là nhỏ nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê trong khoảng tin cậy 95%.

Quá trình trích ly sử dụng dung môi là nước (có độ phân cực mạnh hơn ethanol, methanol và acetone), ngoài polyphenol được trích ly sẽ lôi cuốn thêm nhiều hợp chất đại phân tử khác như: polysaccharide, protein... vào trong dịch chiết, gây ảnh hưởng đến độ chính xác của các phép kiểm định hàm lượng của polyphenol [10]. Ngoài ra, nhóm tác giả Lapornik *et al.* (2005) cũng cho rằng nguyên nhân dịch trích ly bằng nước không tạo ra được hiệu quả trích ly polyphenol như mong muốn vì trong dịch chiết còn có sự tham gia hoạt động của các enzyme polyphenol oxidase, làm giảm hàm lượng cũng như hoạt tính các hợp chất polyphenol, hoạt động của các enzyme này chỉ bị ức chế khi sử dụng các dung môi hữu cơ cho trích ly [11]. Như vậy, dung môi thích hợp để trích ly polyphenol trong trường hợp này là 3 loại dung môi ethanol, methanol và acetone. Tuy nhiên, khi so sánh về hàm lượng anthocyanin thu được của 4 loại dung môi ethanol, methanol, acetone và nước thì lại có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong khoảng tin cậy 95%. Trong đó, hàm lượng anthocyanin được trích ly từ dung môi acetone và ethanol cho kết quả cao và không khác biệt có ý nghĩa thống kê trong khoảng tin cậy 95%. Vì vậy, dung môi ethanol được lựa chọn để khảo sát quá trình trích ly tiếp theo do ethanol an toàn hơn acetone.

### 3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/nước đến lượng polyphenol và anthocyanin thu được

Trong quá trình trích ly, mức độ hòa tan của hợp chất cần trích ly phụ thuộc rất lớn vào nồng độ dung môi (tỷ lệ dung môi/nước). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ dung môi/nước thay đổi với tỷ lệ lần lượt là 25/75; 50/50; 100/0. Kết quả được thể hiện trong Hình 2.

Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol/nước đến lượng polyphenol có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mức. Khi tỷ lệ ethanol/nước tăng từ 25/75 đến 50/50 thì lượng polyphenol thu được tăng từ 15,28 mg GAE/g DW đến 17,25 mg GAE/g DW. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỷ lệ ethanol/nước lên 75/25 và 100/0 thì lượng polyphenol thu được giảm dần và thấp nhất ở tỷ lệ 100/0 (3,84 mg GAE/g DW). Kết quả khảo sát này phù hợp với một số nghiên cứu trước đây. Theo tác giả Rostango *et al.* (2004), khi thêm một lượng nước nhất định từ 30–40% vào dung môi sẽ cải thiện được hiệu quả trích ly polyphenol vì trong nguyên liệu thực vật có rất nhiều loại polyphenol, trong đó các hợp chất chứa nhiều nhóm hydroxyl và gốc đường trong phân tử sẽ rất ưa nước nên chúng tan tốt trong nước hơn là trong dung môi hữu cơ nguyên chất [12]. Nhưng nếu tăng hàm lượng nước quá mức (trên 60%) sẽ làm giảm hiệu quả trích ly vì một số hợp chất polyphenol phổ biến khác như isoflavone, flavanone và các flavone có số lượng methoxyl cao đều là những chất phân cực yếu, tan tốt trong các dung môi phân cực yếu [13].



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol/nước đến lượng polyphenol và anthocyanin có trong dịch trích

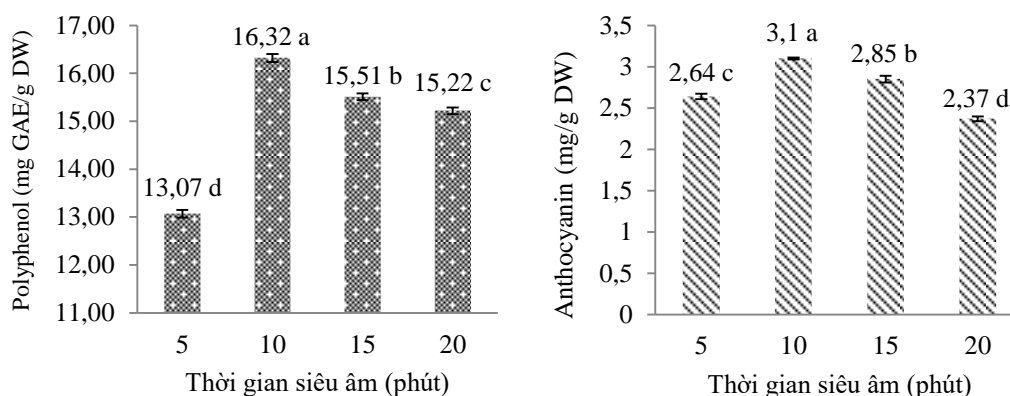
Bên cạnh đó, tỷ lệ ethanol/nước cũng ảnh hưởng rất nhiều đến lượng anthocyanin thu được, sự ảnh hưởng này có ý nghĩa với  $p < 0,05$ . Khi tăng tỷ lệ 25/75 đến 75/25 thì lượng anthocyanin thu được tăng từ 1,98 lên 2,57 mg/g DW và hàm lượng anthocyanin giảm xuống

0,58 mg/g DW ở tỷ lệ 100/0. Với mục tiêu là trích ly được nhiều anthocyanin nhất, tỷ lệ ethanol/nước (75/25) được lựa chọn để tiến hành khảo sát quá trình trích ly tiếp theo.

### 3.3. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến đến lượng polyphenol và anthocyanin thu được

Thời gian siêu âm cũng đóng vai trò nhất định trong toàn bộ quá trình trích ly polyphenol và anthocyanin, nó không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến chi phí và đặc biệt là chất lượng của dịch chiết [14, 15]. Các mốc thời gian 5, 10, 15, 20 phút được lựa chọn để khảo sát. Các yếu tố cố định là tỷ lệ ethanol/nước là 75/25, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 1/20 (w/v), mật độ năng lượng siêu âm là 2,00 W/g. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm (phút) đến khả năng thu hồi lượng polyphenol và anthocyanin được thể hiện ở Hình 3.

Kết quả phân tích phương sai (Anova) cho thấy có sự khác nhau về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức đối với hàm lượng polyphenol và anthocyanin thu hồi. Điều này chứng tỏ rằng sự thay đổi thời gian siêu âm có ảnh hưởng rõ đến quá trình phá vỡ tế bào thực vật để thu hồi polyphenol và anthocyanin.



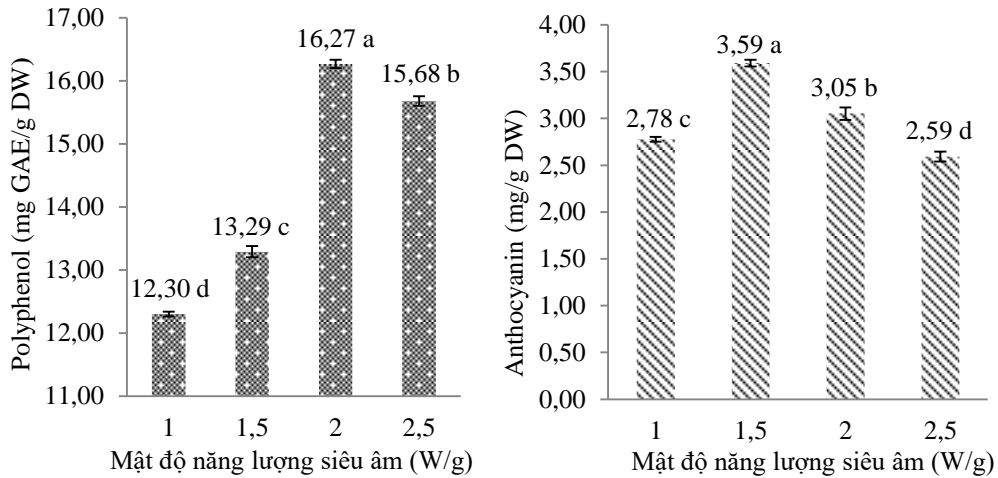
Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến lượng polyphenol và anthocyanin có trong dịch trích ly

Thời gian siêu âm ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng polyphenol và anthocyanin thu được. Khi tăng thời gian siêu âm từ 5 phút lên 10 phút thì hàm lượng polyphenol tăng lên từ 13,07 mg GAE/g đến 16,30 mg GAE/g và hàm lượng anthocyanin tăng từ 2,64 mg/g đến 3,1 mg/g. Tuy nhiên, khi thời gian xử lý siêu âm tiếp tục được tăng lên lớn hơn 10 phút thì polyphenol và anthocyanin lại giảm xuống. Nguyên nhân của hiện tượng trên là do khi tăng thời gian xử lý siêu âm lên thì lúc này thời gian để sóng siêu âm tác động đến thành tế bào càng nhiều và kết quả là số lượng thành tế bào bị phá hủy nhiều hơn. Do đó, hàm lượng polyphenol và anthocyanin tăng lên. Tuy nhiên, khi thời gian xử lý siêu âm được tăng lên lớn hơn 10 phút thì hàm lượng polyphenol và anthocyanin lại bị giảm xuống. Điều này chứng tỏ việc kéo dài thời gian xử lý siêu âm không chỉ góp phần làm tăng khả năng phá hủy thành tế bào thực vật mà sóng siêu âm còn có tác động đến cấu trúc polyphenol và anthocyanin của dịch chiết làm cho hàm lượng polyphenol và anthocyanin giảm xuống. Do đó, thời gian xử lý siêu âm là 10 phút được lựa chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.4. Ảnh hưởng của mật độ năng lượng siêu âm đến lượng polyphenol và anthocyanin thu được

Ở thí nghiệm này, khảo sát ảnh hưởng của mật độ năng lượng phát siêu âm với mật độ năng lượng khảo sát 1 W/g; 1,5 W/g; 2 W/g và 2,5 W/g. Tỷ lệ ethanol/nước là 75/25 (v/v), tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20 (w/v), thời gian siêu âm là 10 phút.

Ảnh hưởng của mật độ năng lượng siêu âm (W/g) đến quá trình trích ly polyphenol và anthocyanin được thể hiện ở Hình 4. Kết quả phân tích phương sai (Anova) cho thấy có sự khác nhau về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức đối với lượng polyphenol và anthocyanin thu hồi. Điều này chứng tỏ mật độ năng lượng siêu âm có ảnh hưởng rõ đến quá trình phá vỡ thành tế bào để thu hồi lượng polyphenol và anthocyanin.

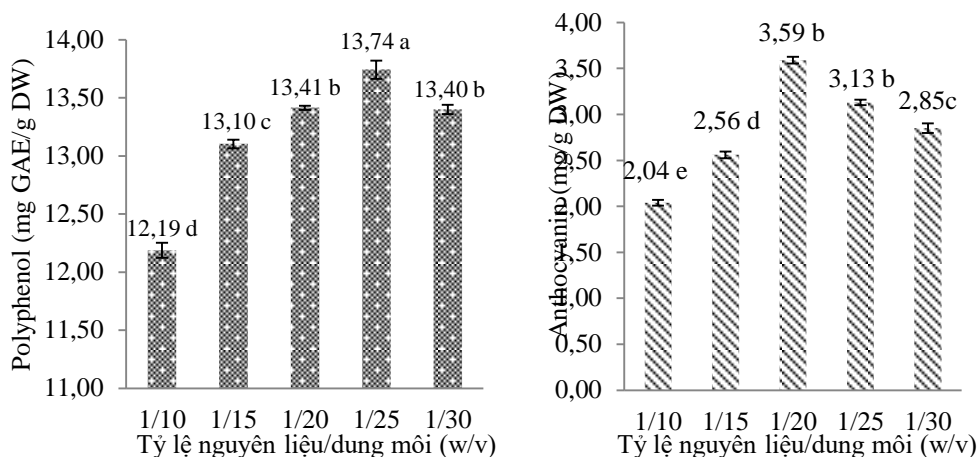


Hình 4. Ảnh hưởng của mật độ năng lượng siêu âm (W/g) đến lượng polyphenol và anthocyanin có trong dịch trích

Khi tăng mật độ năng lượng siêu âm từ 1 W/g lên 2 W/g thì hàm lượng polyphenol tăng từ 12,30 mg GAE/g DW đến 16,27 mg GAE/g DW và khi tăng mật độ năng lượng xử lý siêu âm lên 2,5 W/g thì lượng polyphenol thu được lại giảm xuống so với xử lý siêu âm ở mật độ năng lượng 2 W/g. Tuy nhiên, khi tăng mật độ năng lượng siêu âm từ 1 W/g lên 1,5 W/g thì lượng anthocyanin thu được tăng từ 2,78 mg/g DW đến 3,59 mg/g DW và khi tiếp tục tăng mật độ năng lượng xử lý siêu âm lên 2 W/g thì lượng anthocyanin thu được lại giảm xuống. Điều này chứng tỏ anthocyanin bị ảnh hưởng khi mật độ năng lượng lớn hơn 1,5 W/g. Nguyên nhân của các hiện tượng trên là do tác dụng của sóng siêu âm, cấu trúc tế bào bị phá vỡ một phần giúp các hợp chất trong tế bào dễ dàng thoát ra ngoài, trong đó có polyphenol làm cho lượng polyphenol và anthocyanin trong tế bào thoát ra nhiều hơn [16]. Khi mật độ năng lượng xử lý siêu âm được tăng lên cao ( $> 2$  W/g) thì năng lượng siêu âm cao có thể sinh ra gốc hydroxyl sẽ tác động đến polyphenol, làm giảm hàm lượng và hoạt tính kháng oxy hóa của chúng [17, 18]. Vì vậy, mật độ năng lượng siêu âm 1,5 W/g (45 W/30 g) được lựa chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến lượng polyphenol và anthocyanin thu được

Nhìn chung, tỷ lệ dung môi lớn có thể hòa tan, trích ly được các thành phần hiệu quả hơn, dẫn tới tăng cường sản lượng khai thác. Tuy nhiên, điều này sẽ gây ra sự lãng phí dung môi cũng như lãng phí các chi phí liên quan. Mặt khác, tỷ lệ dung môi nhỏ dẫn đến sản lượng khai thác thấp hơn. Do đó, sự lựa chọn tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là rất quan trọng. Trong nghiên cứu này, quá trình xử lý siêu âm với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (w/v) thay đổi từ 1/10 đến 1/30. Dung môi sử dụng ở đây là ethanol/nước (75/25), thời gian xử lý siêu âm được cố định là 10 phút và mật độ năng lượng cố định là 1,5 W/g. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến lượng polyphenol và anthocyanin được thể hiện ở Hình 5.



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến lượng polyphenol và anthocyanin có trong dịch trích

Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi trong dịch xử lý siêu âm đến lượng polyphenol thu được có sự khác biệt giữa các mức, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa giữa tỷ lệ 1/20 và 1/30. Lượng polyphenol thu được cao nhất tại tỷ lệ 1/25 (13,74 mg GAE/g DW) và thấp nhất ở 1/10 (12,09 mg GAE/g DW). Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi trong dịch xử lý siêu âm đến lượng anthocyanin thu được có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mức, hàm lượng anthocyanin thu được cao nhất tại tỷ lệ 1/20 (3,59 mg/g DW) và thấp nhất ở 1/10 (2,04 mg/g DW).

Có được kết quả như vậy là do khi lượng dung môi/nước càng lớn thì lượng polyphenol thu được càng cao vì tạo ra được sự chênh lệch nồng độ cần thiết giữa bên trong và bên ngoài môi trường, tức là luôn có động lực cho quá trình. Bên cạnh đó, khi tỷ lệ dung môi/nước giảm sẽ làm hạn chế sự bốc hơi chất lỏng, giảm sự hình thành các bong bóng khí. Vì sự thiếu hụt chất lỏng, các bong bóng không được nhân lên và hiện tượng sủi bóng chỉ xảy ra xung quanh đầu dò của thiết bị siêu âm dẫn tới hiệu quả siêu âm bị giảm [19].

Kết quả thu được từ thí nghiệm này không có sự khác biệt nhiều so với kết quả khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi của các tác giả He *et al.* (2016) khi nghiên cứu chiết xuất anthocyanin và phenolics tổng từ bã của quả việt quất trong sản xuất rượu vang với sự hỗ trợ của sóng siêu âm (UAE) đã xác định tỷ lệ chất lỏng và rắn là 21,70 mL/g [6] và Zhu *et al.* (2016) khi nghiên cứu về tỷ lệ nguyên liệu/dung môi để trích anthocyanin và polyphenol từ khoai lang tím là 1/20 [20]. Do đó, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi phù hợp nhất để tiến hành quá trình trích ly là 1/20 (w/v).

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này cho thấy nồng độ cồn, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, thời gian siêu âm, mật độ năng lượng có ảnh hưởng đến lượng polyphenol và anthocyanin thu nhận. Kết quả khảo sát cho thấy, ở tỷ lệ ethanol/nước 75/25, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20, thời gian siêu âm 10 phút, mật độ năng lượng siêu âm 1,5 W/g sẽ thu được lượng polyphenol là 13,41 mg GAE/g DW và anthocyanin là 3,59 mg/g DW. Hàm lượng anthocyanin tăng 39,1% so với mẫu không ứng dụng siêu âm.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Salgado J. M., Bombarde T. A. D., Mansi D. N., Piedade S. M. D.S., Meletti L. M. M. - Effects of different concentrations of passion fruit peel (*Passiflora edulis*) on the glicemic control in diabetic rat, Cienc. Techno.Aliment **30** (3) (2010) 784-789.
2. Jin D. and Russell J. M. - Plant phenolic: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, Molecules **15** (10) (2010) 7313-7352.
3. Popović D., Đukić D., Katić V., Jović Z., Jović M., Lalić J., Golubović I., Stojanović S., Ulrih N.P., Stanković M., Sokolović D. - Antioxidant and proapoptotic effects of anthocyanins from bilberry extract in rats exposed to hepatotoxic effects of carbon tetrachloride, Life Sciences **157** (2016) (168-177).
4. Cisowska A., Wojnicz D., Hendrich A. B. - Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin, Natural Product Communications **6** (1) (2011) 149-156.
5. Ghafoor K., Choi Y.H. - Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape peel through response surface methodology, Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry **52** (3) (2009) 295-300.
6. He B., Zhang L.L., Yue X.Y., Liang J., Jiang J., Gao X.L., Yue P.X. - Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanin from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace, Food Chemistry **204** (2016) 70-76.
7. Ravanfar Raheleh, Tamadon Mohammad A., Niakousari Mehrdad. - Optimization of ultrasound assisted extraction of anthocyanin from red cabbage using Taguchi design method, Journal of Food Science and Technology **52** (12) (2015) 8140-8147.
8. 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.
9. Gabriela S., Simona L., Constanta S., and Sabina Z. - Spectrophotometric study on stability of anthocyanin extracts from black grapes skins, Ovidius University Annals of Chemistry **21**(1) (2010) 101-104.
10. Rostagno M.A., Palma M., Barroso C.G. - Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones, Journal of Chromatography A **1012** (2) (2003) 119-128.
11. Lapornik B., Prošek M., & Wondra A.G. - Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time, Journal of Food Engineering **71** (2) (2005) 214-222.
12. Rostagno M.A., Palma M., Barroso C.G. - Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans, Analytica Chimica Acta **522** (2) (2004) 169-177.
13. Bradshaw M.P., Prenzler P.D., Scollary G. R. - Ascorbic acid-induced browning of (+)-catechin in a model wine system, Journal of Agricultural and Food Chemistry **49** (2) (2001) 934-939.
14. Naczki M., Shahidi F. - Extraction and analysis of phenolics in food, Journal of Chromatography A **1054** (1-2) (2004) 95-111.
15. Perva-Uzunalic A., Skerget M., Knez Z., Weinreich B., Otto F., Gruner S. - Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine, Food Chemistry **96** (4) (2006) 597-605.
16. Charles D. J. - Antioxidant properties of spices, herbs and other sources: Springer Science & Business Media, 2012.

17. Mason T. J., and Lorimer J. P.- Applied sonochemistry - the uses of power ultrasound in chemistry and processing, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2002, 1-48.
18. Vo D. H., and Le V. V. M. - Optimization of ultrasonic treatment of rose myrtle mash in the extraction of juice with high antioxidant level, International Food Research Journal **21** (6) (2014) 2331-2335.
19. Show K.Y., Mao T., Lee D.J. - Optimization of sludge disruption by sonication, Water Research **41** (20) 4741-4747.
20. Zhu Z., Guan Q., Guo Y., He J., Liu G., Li S., Barba F. J., and Jaffrin M. Y.- Green ultrasound-assisted extraction of anthocyanin and phenolic compounds from purple sweet potato using response surface methodology, International Agrophysics **30** (1) (2016) 113-122.

### ABSTRACT

#### EFFECTS OF ULTRASOUND TREATMENT ON EXTRACTION OF POLYPHENOLS AND ANTHOCYANINS FROM PASSION FRUIT (*Passiflora incarnate*) PEELS

Nguyen Dinh Dung<sup>1,2</sup>, Vu Thi Huong<sup>1</sup>,  
Le Trung Thien<sup>2\*</sup>, Hoang Quang Binh<sup>2</sup>, Ho Nam Chien<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>*Ho Chi Minh City University of Food Industry*  
<sup>2</sup>*Nong Lam University - Ho Chi Minh City*  
\*Email: [le.trungthien@hcmuaf.edu.vn](mailto:le.trungthien@hcmuaf.edu.vn)

Passion fruit peels are considered as food production industry's by-products peeled from the passion fruits during the processing. This study was carried out to evaluate the effects of ultrasound treatment on polyphenol and anthocyanin extraction from passion fruit peels. The factors influencing the extraction process included type of solvent, solvent to water ratio, time of ultrasound treatment, ultrasound energy density, and ratio of material to solvent system. The polyphenol content and anthocyanin concentration were determined using the Folin-Ciocalteu method and pH differential method, respectively. The results show that using the ethanol, ethanol to water ratio of 75/25 (v/v), 10 minutes of ultrasound treatment, ultrasound energy density 1,5 (W/g), and material to solvent ratio of 1/20 (w/v) gave the highest content of polyphenols (13.41 (mg GAE/g DW)) and anthocyanins (3.59 (mg/g DW)). These findings provide a comprehensive information of factors affecting the ultrasound-assisted extraction of polyphenols and anthocyanins from passion fruit peels, improve the quality of passion fruits and reduce the environmental pollution caused by passion fruit peels.

*Keywords:* Passion fruit, *Passiflora incarnate*, polyphenol, anthocyanin, ultrasound.