



## BIỆN PHÁP TIỀN XỬ LÝ VÀ TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY QUERCETIN TỪ CŨ HÀNH TÍM (*Allium cepa*)

Nguyễn Thị Như Lạc<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Thủy<sup>1</sup> và Nguyễn Văn Thành<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 24/10/2016

### Title:

Pretreatment method and optimization of conditions for the extraction of quercetin from purple shallot (*Allium cepa*)

### Từ khóa:

Hành tím, hoạt tính chống oxy hóa, quercetin, tối ưu hóa, trích ly

### Keywords:

Purple shallot, anti-oxidant activity, quercetin, optimization, extraction

### ABSTRACT

Purple shallot (*Allium cepa*) contains abundant bioactive compounds that are good for human health. This work investigated the feasibility of pretreatments including steaming (60÷120 seconds) and drying at 50÷90°C for 2÷6 hours to assist the extraction of bioactive compounds from red onion. Response surface methodology was used to optimize the extraction variables: ethanol concentration (40÷60%), extraction temperature (40÷60°C) and time (50÷70 min). Total quercetin content of onion extract was analyzed. The results showed that both steaming and drying could improve the extraction efficiency of bioactive compounds from the onion. The highest quercetin content that was 0,7 mg/g, were obtained in those extracts when onions were dried at 90°C for 4 hours prior to extraction. The statistical results illustrated that quadratic equations for four responses were significant and presented the coefficients of determination above 95%, indicating their suitability for prediction responses. Based on desirability function, the optimum operating conditions were found to be ethanol concentration of 50,81% v/v, extraction temperature of 50,27°C for 62,86 min. With these optimal conditions, the quercetin content in the extract was 1,255 mg/g.

### TÓM TẮT

Hành tím (*Allium ascalonicum*) chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học rất phong phú và tốt cho sức khỏe con người. Nghiên cứu đánh giá khả năng ứng dụng biện pháp tiền xử lý, bao gồm biện pháp hấp (60÷120 giây) và sấy ở 50÷90°C trong thời gian từ 2 đến 6 giờ để hỗ trợ quá trình trích ly hợp chất quercetin từ củ hành tím. Phương pháp bề mặt đáp ứng được sử dụng để tối ưu hóa các thông số của quá trình trích ly: nồng độ ethanol (40÷60%), nhiệt độ (40÷60°C) và thời gian trích ly (50÷70 phút). Hàm lượng quercetin trong dịch trích ly hành tím được phân tích. Kết quả cho thấy, cả hai biện pháp hấp và sấy đều có thể nâng cao hiệu quả trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ củ hành tím. Khi thực hiện quá trình sấy ở 90°C trong 4 giờ trước khi trích ly, hàm lượng quercetin trong dịch trích hành tím thu được là cao nhất (0,7 mg/g). Kết quả phân tích sử dụng mô hình bề mặt đáp ứng đã chứng minh phương trình bậc hai cho các biến phụ thuộc đều có ý nghĩa ( $p < 0,001$ ) với các hệ số xác định tương quan trên 95%, sự phù hợp của mô hình dự đoán cho biến phụ thuộc (quercetin) được ghi nhận. Dựa trên hàm mong muốn, các điều kiện tối ưu được tìm thấy ở nồng độ ethanol 50,81% v/v, nhiệt độ trích ly 50,27°C trong 62,86 phút. Dưới những điều kiện tối ưu, hàm lượng quercetin trong dịch trích đạt được là 1,255 mg/g.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Như Lạc, Nguyễn Minh Thủy và Nguyễn Văn Thành, 2016. Biện pháp tiền xử lý và tối ưu hóa điều kiện trích ly quercetin từ củ hành tím (*Allium cepa*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 1): 75-83.

## 1 MỞ ĐẦU

Hành tím đã được sử dụng rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới như một loại rau gia vị, một vị thuốc y học cổ truyền với các lợi ích về sức khỏe bao gồm chất chống oxy hóa, kháng tiểu cầu, chống huyết khối, trị hen và các hiệu ứng kháng sinh (Nile và Park, 2013). Mười sáu hợp chất flavonol khác nhau đã được xác định trong hành tím bao gồm các aglycone và các dẫn xuất glycosyl hóa của quercetin, isorhamnetin và kaempferol (Hänninen *et al.*, 2000; Soobrattee *et al.*, 2006). Pérez-Gregorio *et al.* (2010) đã công bố rằng các flavonol là những hợp chất polyphenol chủ yếu trong củ hành tím. Tổng hàm lượng quercetin trong hành tím cao hơn so với nhiều loại trái cây và rau quả khác (Hollman và Arts, 2000). Trong đó, hợp chất quercetin là chất chống oxy hóa đặc trưng của hành tím, quercetin được biết đến với tác dụng rõ rệt trong điều trị dị ứng, hen suyễn, viêm khớp, ung thư, biến chứng tiểu đường, rối loạn thoái hóa thần kinh và bệnh loãng xương (Kempuraj *et al.*, 2006). Hàm lượng các hợp chất này thường tăng từ trong ra ngoài vỏ và chiếm khoảng 93% tổng hàm lượng flavonol trong hành tím (Lee *et al.*, 2008).

Hiệu quả quá trình trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học phụ thuộc vào mức độ phá hủy tế bào thực vật với sự hỗ trợ của các quá trình tiền xử lý như chần, hấp, sấy (Aoyama và Yamamoto, 2007). Trong đó, hấp là biện pháp xử lý thường được áp dụng đối với rau củ trước khi chế biến nhằm mục đích đình chỉ quá trình sinh hóa xảy ra trong nguyên liệu, vô hoạt enzyme, phá vỡ cấu trúc tạo điều kiện cho dung môi và nguyên liệu tiếp xúc tốt hơn. Do đó, việc lựa chọn chế độ hấp tùy vào mục đích chế biến, loại và kích thước nguyên liệu. Ưu điểm của biện pháp hấp là ít tổn thất chất dinh dưỡng, rút ngắn thời gian xử lý.

Bên cạnh đó, quá trình sấy làm giảm độ ẩm nguyên liệu, từ đó làm tăng diện tích tiếp xúc của nguyên liệu cũng như tăng tỷ lệ dung môi sử dụng với nguyên liệu. Quá trình sấy gây ra sự phá vỡ cấu trúc tế bào, tạo điều kiện cho dung môi và nguyên liệu tiếp xúc tốt hơn, làm tăng khả năng trích ly. Nhiều nghiên cứu trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật đã chọn phương pháp sấy nguyên liệu trước khi trích ly vì nhiều lý do như làm giảm độ ẩm nguyên liệu (Müller *et al.*, 2006), thuận lợi cho quá trình trích ly (Marur và Sodek, 1995), ức chế được hệ enzyme oxy hóa (polyphenoloxylase), tránh thất thoát hàm lượng các hợp chất có trong nguyên liệu (Gupta *et al.*,

2011), đồng thời cho hiệu suất trích các chất có hoạt tính sinh học cao nhất (Birdi *et al.*, 2006). Kích thước nguyên liệu và mức độ phá vỡ tế bào là một trong những yếu tố được đánh giá là có ảnh hưởng lớn đến khả năng trích ly (Cacace và Mazza, 2003a).

Trích ly là quá trình tách một hoặc nhiều chất tan trong chất lỏng hay trong chất rắn bằng một chất lỏng khác gọi là dung môi. Trong nghiên cứu này, các biện pháp tiền xử lý nguyên liệu (hấp, sấy) được thực hiện với mục đích cải thiện và tăng thêm hiệu quả cho tiến trình trích ly. Phương pháp bề mặt đáp ứng được áp dụng để xác định ảnh hưởng của các yếu tố (nhiệt độ, nồng độ dung môi, thời gian trích ly) và sự tương tác lẫn nhau giữa chúng trong tiến trình với mục tiêu cuối cùng là chọn lựa các thông số tối ưu cho quá trình trích ly hợp chất quercetin trong hành tím với hàm lượng cao nhất.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên liệu

Hành tím trồng theo tiêu chuẩn VietGAP và thu nhận ở Hợp tác xã hành tím Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng được phơi khô lá và lớp vỏ bên ngoài, bao gói và bảo quản nơi thoáng mát. Hành tím được thu mua và vận chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2 Chuẩn bị mẫu

Hành tím loại bỏ phần hư hỏng, tạp chất sau đó ngâm nước, bóc vỏ và xử lý ozone trước khi tiến hành nghiên cứu. Mẫu hành tím sau khi làm sạch được xử lý với 2 biện pháp gồm: hấp và sấy. Hành tím sau khi hấp, sấy, thực hiện trích ly và phân tích hàm lượng quercetin theo phương pháp hấp thụ quang phổ với bước sóng 374 nm. Khi chọn được biện pháp xử lý hỗ trợ hiệu quả cho quá trình trích ly, tiến hành khảo sát điều kiện tối ưu hóa quá trình trích ly với các nhân tố nhiệt độ, nồng độ ethanol và thời gian trích ly để thu được hàm lượng quercetin cao nhất.

### 2.3 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm hấp được bố trí với một nhân tố thời gian (60÷120 giây, cách nhau 30 giây). Biện pháp sấy được bố trí với 2 nhân tố nhiệt độ (50÷90°C, cách nhau 10°C) và thời gian (2÷6 giờ, cách nhau 2 giờ). Quá trình trích ly được bố trí theo mô hình Box-Behnken với 3 nhân tố gồm nhiệt độ ( $X_1$ ), nồng độ ethanol ( $X_2$ ) và thời gian trích ly ( $X_3$ ). Mỗi nhân tố được thực hiện với 3 mức độ (Bảng 1).

**Bảng 1: Các nhân tố và mức độ khảo sát trong thí nghiệm theo mô hình Box-Behnken**

Ký hiệu	Nhân tố	Đơn vị	Mức độ		
			-1	0	1
X <sub>1</sub>	Nhiệt độ	°C	40	50	60
X <sub>2</sub>	Nồng độ ethanol	% v/v	40	50	60
X <sub>3</sub>	Thời gian	Phút	50	60	70

Mô hình Box-Behnken được bố trí để tìm ra điểm tối ưu với 6 điểm trung tâm. Tổng số nghiệm thức là 18 trong đó có 6 điểm trung tâm (Bảng 2). Theo dõi hàm lượng quercetin được trích ly đến khi hiệu quả trích ly đạt cao nhất.

**Bảng 2: Bố trí thí nghiệm theo mô hình Box-Behnken**

STT	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	0	0	0
2	-1	-1	0
3	0	1	1
4	-1	1	0
5	1	0	1
6	1	-1	0
7	-1	0	1
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
11	-1	0	-1
12	0	-1	1
13	0	-1	-1
14	0	0	0
15	0	0	0
16	0	1	-1
17	1	0	-1
18	1	1	0

**2.4 Phương pháp phân tích và thống kê số liệu**

**2.4.1 Phân tích hàm lượng quercetin tổng số** (Yoo et al., 2010)

Hành tím đã bóc vỏ được xay nhuyễn với ethanol 80% trong 5 phút, sau đó lọc qua giấy lọc. Đo độ hấp phụ của mẫu ở bước sóng 374 nm bằng máy đo quang phổ UV. Căn cứ vào cường độ màu đo được trên máy quang phổ và dựa vào đường chuẩn để xác định hàm lượng polyphenol tổng số

có trong mẫu. Nếu độ hấp thu lớn hơn 1,5 thì cần phải pha loãng mẫu với ethanol 80%. Đường chuẩn với quercetin trong methanol 80% được xây dựng với nồng độ từ 7-17 µg/mL.

**2.4.2 Thống kê số liệu**

Các kết quả của thí nghiệm trước được cố định sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo. Các số liệu thu thập được tính toán, phân tích bằng phần mềm Stagraphics 15.1 để phân tích phương sai ANOVA và kiểm định mức độ sai khác trung bình giữa các nghiệm thức LSD. Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2010 tính toán và vẽ đồ thị.

Phân tích thống kê (STATGRAPHIC) được sử dụng để chọn mô hình phù hợp cho các dữ liệu thu thập. Phương trình được đề xuất (giá trị Y) trong trường hợp này:

$$Y = b_0 + b_n X_n + b_{nn} X_n^2 + b_{nm} X_n X_m + \dots$$

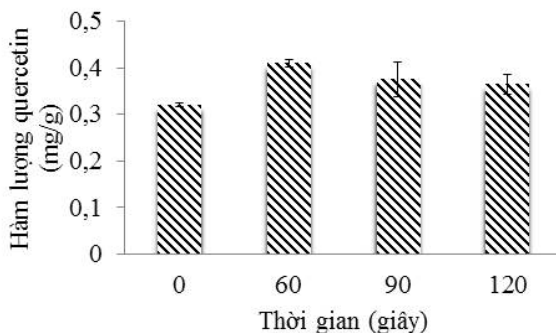
Trong đó: b<sub>0</sub> là hệ số; b<sub>n</sub>, b<sub>nn</sub> và b<sub>nm</sub> là các hệ số bậc 1, bậc 2 của phương trình hồi quy; X<sub>n</sub>, X<sub>m</sub>... là các giá trị của biến độc lập.

Kiểm định sự tương thích dữ liệu theo mô hình và dữ liệu thực nghiệm được thực hiện.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Ảnh hưởng thời gian hấp đến hiệu quả trích ly hợp chất quercetin trong hành tím**

Theo Brennan (2006) thì thời gian hấp ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi dịch quả. Cacace và Mazza (2003a) xác định rằng, kích thước nguyên liệu và mức độ phá vỡ tế bào là một trong những yếu tố để đánh giá có ảnh hưởng đến khả năng trích ly. Hành tím sau khi hấp với các khoảng thời gian khác nhau thì tiến hành phân tích hàm lượng hợp chất quercetin (thể hiện ở Hình 1).



**Hình 1: Ảnh hưởng quá trình hấp đến hiệu quả trích ly quercetin trong hành tím**

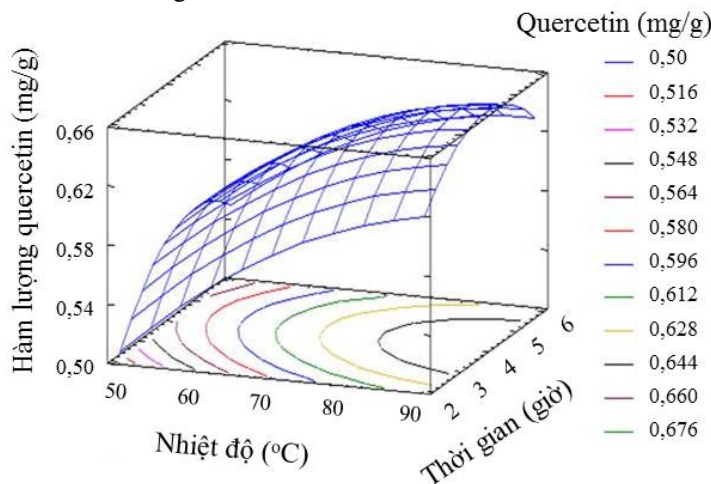
Kết quả phân tích cho thấy, hợp chất quercetin trong các mẫu hành tím hấp tăng so với mẫu không xử lý ( $p < 0,05$ ). Hàm lượng quercetin tăng cao nhất khi hấp với thời gian 60 giây (0,410 mg/g). Khi tăng thời gian hấp 90 giây thì hàm lượng quercetin trích ly có giảm (0,375 mg/g) nhưng không thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với mẫu hấp 60 giây. Trong khi đó, mẫu hấp với thời gian 120 giây, hàm lượng quercetin giảm (0,364 mg/g) và thể hiện sự khác biệt ( $p < 0,05$ ) so với mẫu hấp 60 giây. Quá trình hấp làm phá vỡ cấu trúc tế bào, cắt đứt liên kết yếu của các hợp chất, tạo thuận lợi cho quá trình trích ly, nhưng khi thời gian hấp kéo dài cũng đã làm hòa tan các hợp chất vào môi trường nước, dẫn đến tổn thất các hợp chất trong đó có quercetin. Do trong hành tím, hợp chất quercetin tồn tại ở dạng liên kết quercetin 3,4'-diglucoside (QDG) và quercetin 4'-glucoside (QMG) nên có thể hòa tan trong môi trường nước. Nghiên cứu của Vallejo *et al.* (2003) cho rằng, khi hấp thời gian ngắn sẽ làm tăng hàm lượng các hợp chất phenolic của bông cải xanh. Theo nghiên cứu của Lombard *et al.* (2005), khi hành được xử lý bằng phương pháp đun sôi thì hàm lượng quercetin giảm 18%. Cũng theo báo cáo của Lombard *et al.* (2005), các biện pháp xử lý nhiệt ướt (chần, hấp) sẽ làm giảm nồng độ flavonol tổng. Makris và Rossiter (2001b) thì kết luận, phương pháp đun sôi sẽ phá vỡ mô tế bào làm tổn thất hàm lượng flavonol vì các hợp chất flavonol bị hòa tan vào trong nước. Hàm

lượng quercetin trong hành giảm khoảng 75% khi nấu sôi trong 15 phút (Ewald *et al.*, 1999). Quá trình nấu làm mất khoảng 5,4% chất khô trong hành tím và 1,6% trong hành nâu. Trong đó, hàm lượng quercetin bị hòa tan vào nước là 14,3% đối với hành đỏ và hành nâu khoảng 21,9%. Khi nấu hành thì nồng độ các hợp chất flavonol giảm, nguyên nhân do nguyên liệu hút nước làm tăng độ ẩm và các hợp chất bị hòa tan vào nước (Price *et al.*, 1997). Như vậy khi tăng thời gian hấp sẽ gây tổn thất hàm lượng quercetin trong hành tím. Hàm lượng quercetin thu được cao nhất là 0,410 mg/g khi hành tím hấp với thời gian 60 giây.

**3.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến hiệu quả trích ly hợp chất quercetin trong hành tím**

Müller *et al.* (2006) nghiên cứu về quá trình trích ly chất có hoạt tính sinh học từ thực vật đã chọn phương án sấy nguyên liệu trước khi trích ly vì nhiều lý do như làm giảm độ ẩm nguyên liệu, thuận lợi cho quá trình trích ly, đồng thời cho hiệu suất trích các chất có hoạt tính sinh học cao nhất (Birdi *et al.*, 2006). Do đó, nghiên cứu về nhiệt độ và thời gian sấy là yếu tố quan trọng khi xử lý nguyên liệu bằng phương pháp sấy.

Hành tím khi sấy với các mức nhiệt độ (50÷90°C) và thời gian khác nhau (2÷6 giờ) thì hàm lượng quercetin thu được tăng dần (Hình 2).



**Hình 2: Ảnh hưởng quá trình sấy đến hiệu quả trích ly hợp chất quercetin trong hành tím**

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, hàm lượng quercetin trong dịch trích từ hành tím sau sấy tăng ở mức khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ). Khi nhiệt độ sấy tăng từ 50÷90°C thì hàm lượng các hợp chất tăng dần (0,522÷0,679 mg/g). Tương tự, khi thời gian sấy tăng từ 2 đến 4 giờ thì hàm lượng quercetin trích từ hành tím sấy tăng (từ

0,531 đến 0,647 mg/g), nhưng khi sấy đến 6 giờ thì hàm lượng quercetin bắt đầu giảm ( $p < 0,05$ ). Điều này có thể do thời gian sấy kéo dài nên các hợp chất bị oxy hóa dưới sự có mặt của oxy trong tác nhân sấy. Theo Vega-Gálvez *et al.* (2009), thời gian sấy càng dài thì hàm lượng các hợp chất sinh học càng giảm. Pérez-Gregorio *et al.* (2010) công bố



ràng, các hợp chất quercetin là những hợp chất polyphenol chủ yếu trong củ hành tím nên chịu các tác động giống như hợp chất phenol trong những điều kiện xử lý khác nhau. Sự hình thành các hợp chất ở nhiệt độ cao (khoảng 90°C) có thể do các phân tử phenol chứa sẵn các tiền chất và được phân ứng không enzyme chuyển đổi giữa phân tử (Que *et al.*, 2008). Haard (1976) đã công bố rằng, khi sấy cà chua với nhiệt độ 88°C sẽ không làm thay đổi hàm lượng phenol tổng số. Acid phenolic trong tế bào xảy ra quá trình trao đổi chất và tích lũy trong các không bào. Xử lý nhiệt có thể phân hủy các tế bào giúp giải phóng acid phenolic. Kết quả trên cho thấy, sự gia tăng nhiệt độ và thời gian sấy có ảnh hưởng lớn đến hiệu quả trích ly hợp chất quercetin trong hành tím. Hàm lượng quercetin đạt cao nhất (0,7 mg/g) khi sấy ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 4 giờ.

Từ kết quả phân tích hàm lượng quercetin khi xử lý hấp (60 giây) và sấy (90°C, 4 giờ) thì mẫu sấy ở nhiệt độ 90°C, thời gian 4 giờ cho hiệu quả

trích ly cao hơn nên được chọn để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

### 3.3 Tối ưu hóa quá trình trích ly hợp chất quercetin từ hành tím

Kết quả phân tích thống kê ANOVA được chấp nhận với mức độ ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) và mô hình tương quan tốt khi hệ số xác định tương quan  $R^2$  lớn hơn 0,8 (Guan và Yao, 2008). Giá trị của các biến số tham gia vào mô hình Box-Behnken được trình bày trong Bảng 3. Trên cơ sở mức độ ý nghĩa của các biến, phương trình hồi quy đa chiều được xây dựng để dự đoán mối quan hệ giữa các biến độc lập và biến phụ thuộc đến hàm lượng quercetin thu được trong quá trình trích ly. Kết quả phân tích thống kê ANOVA đối với hàm lượng quercetin cho thấy, mức độ ảnh hưởng của từng biến tuyến tính ( $X_1, X_2, X_3$ ), giá trị bậc hai ( $X_1^2, X_2^2, X_3^2$ ) và tương tác ( $X_1X_3, X_2X_3$ ) đều thể hiện mức độ ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) và độ tin cậy cao khi tham gia vào mô hình. Chỉ riêng giá trị  $p$  của tương tác nhiệt độ và nồng độ ( $X_1X_2$ ) lớn hơn 0,05 ( $p = 0,345$ ), do đó nhân tố này được rút ra khỏi phương trình.

**Bảng 3: Kết quả phân tích thống kê ANOVA mức độ ý nghĩa của các hệ số hồi quy của hàm lượng quercetin**

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Giá trị P
$X_1$	0,00324012	1	0,00324012	24,35	0,0043
$X_2$	0,000968	1	0,000968	7,27	0,0429
$X_3$	0,00143113	1	0,00143113	10,75	0,0220
$X_1^2$	0,021714	1	0,021714	163,18	0,0001
$X_1X_2$	0,000144	1	0,000144	1,08	0,3459
$X_1X_3$	0,0122103	1	0,0122103	91,76	0,0002
$X_2^2$	0,00469219	1	0,00469219	35,26	0,0019
$X_2X_3$	0,001444	1	0,001444	10,85	0,0216
$X_3^2$	0,00142037	1	0,00142037	10,67	0,0223

Tương quan của các biến độc lập đến hàm lượng quercetin được xây dựng theo phương trình với hệ số xác định tương quan cao ( $R^2 = 0,96$ )

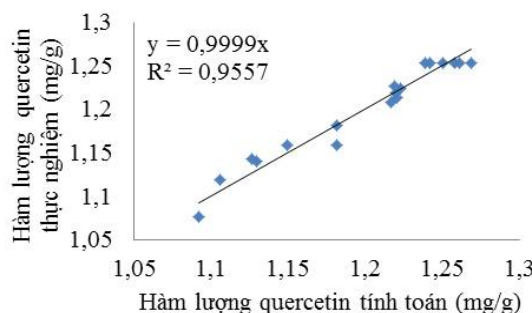
$$Y = -4,442 + 0,105X_1 + 0,045X_2 + 0,060X_3 - 0,0007X_1^2 - 0,0005X_1X_3 - 0,0003X_2^2 - 0,0002X_2X_3 - 0,0002X_3^2$$

Trong đó: Y là hàm lượng quercetin (mg/g),  $X_1$  là nhiệt độ (°C),  $X_2$  là nồng độ ethanol (%) và  $X_3$  là thời gian (phút).

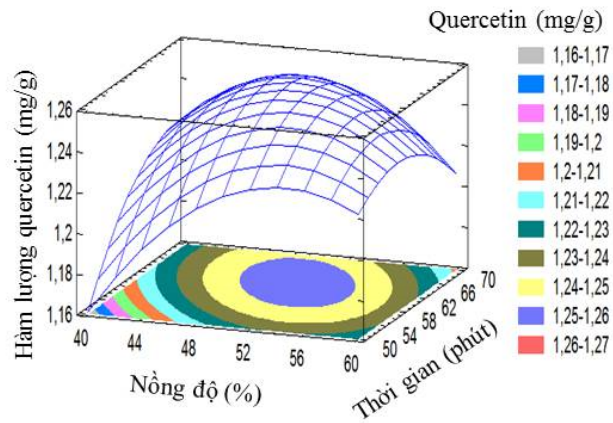
Phương trình thể hiện được sự tương thích của các giá trị thực nghiệm và tính toán, hàm lượng quercetin thu được từ thực nghiệm và tính toán theo phương trình có độ tương thích cao ( $R^2 = 0,955$ ) và mô hình dự đoán được thể hiện ở Hình 3.

Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện mối tương tác giữa các yếu tố nhiệt độ, nồng độ ethanol và thời

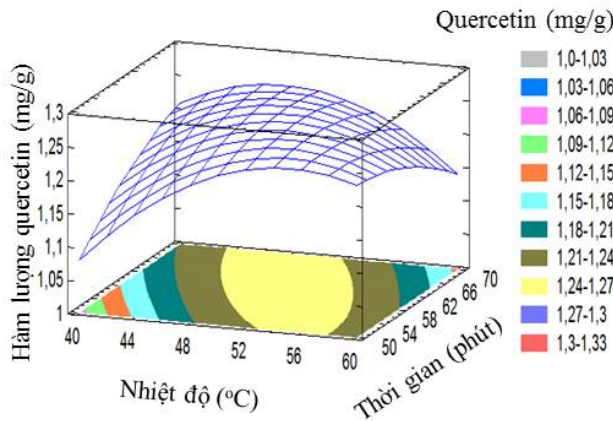
gian đến hàm lượng quercetin thu được trong dịch trích ly thể hiện ở các Hình 4, 5 và 6.



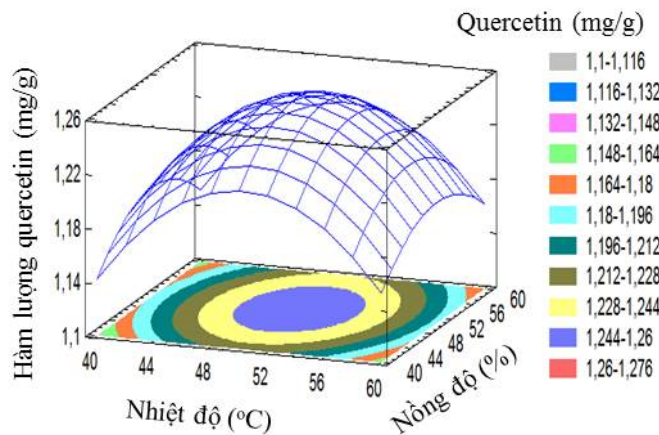
**Hình 3: Tương quan giữa hàm lượng quercetin thực nghiệm và tính toán**



Hình 4: Tương quan giữa nồng độ ethanol và thời gian trích ly đến hàm lượng quercetin (nhiệt độ 50,27°C)



Hình 5: Tương quan giữa nhiệt độ và thời gian trích ly đến hàm lượng quercetin (nồng độ ethanol 50,81%)



Hình 6: Tương quan giữa nhiệt độ và nồng độ ethanol trích ly đến hàm lượng quercetin (thời gian 62,86 phút)

Với nguyên liệu là thực vật sấy khô, dung môi ethanol có thể phá vỡ màng tế bào và tăng cường khả năng trích ly (Robards *et al.*, 1999). Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi điều chỉnh nồng độ dung môi trong quá trình trích ly từ 40 - 50% (v/v) thì hàm lượng hợp chất quercetin tăng lên ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol đến 60% thì hàm lượng quercetin có xu hướng giảm (Hình 4 và 6). Nghiên cứu của Frank *et al.* (1999) kết luận, hiệu quả trích ly hợp chất sinh học phần lớn phụ thuộc vào sự phân cực của dung môi và hợp chất cần trích ly. Sự thay đổi nồng độ ethanol sẽ làm thay đổi các tính chất của dung môi như độ phân cực và hằng số điện môi, dẫn đến thay đổi khả năng hòa tan. Khi nồng độ ethanol tăng sẽ làm thay đổi độ phân cực của dung môi phù hợp với chất tan nên hiệu quả trích ly tăng lên. Bên cạnh đó, ethanol còn giúp phá vỡ vách tế bào làm tăng bề mặt diện tích tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi tạo thuận lợi cho quá trình trích ly. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol thì độ phân cực của dung môi thay đổi có thể không phù hợp với độ phân cực của quercetin nên làm giảm hiệu quả trích ly quercetin. Nghiên cứu của Bai *et al.* (2010) đã báo cáo rằng, hàm lượng polyphenol tăng khi nồng độ ethanol tăng lên đến một mức ngưỡng nhất định. Ngoài mức ngưỡng này, hàm lượng polyphenol giảm vì hiệu quả trích ly chỉ có thể đạt được khi nồng độ ethanol ở mức phù hợp. Akowuah *et al.* (2005) cũng báo cáo, khi sử dụng methanol 50% để trích ly polyphenol của cây râu mèo cho hiệu quả cao hơn các nồng độ khác (0 và 100%). Trong nghiên cứu chiết xuất quercetin từ vỏ củ hành, Dmitrienko *et al.* (2011) đã sử dụng dung môi methanol 50%. Như vậy, nồng độ ethanol khoảng 50% là tối ưu để trích ly các hợp chất sinh học trong hành tím.

Tương tự, thời gian trích ly cũng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hàm lượng quercetin. Khi thời gian trích ly từ 50 - 60 phút hàm lượng quercetin tăng, thời gian tăng đến 70 phút hàm lượng quercetin giảm (Hình 4 và 5). Thời gian kéo dài làm tăng khả năng tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi, các hoạt chất dễ dàng di chuyển ra môi trường. Tuy nhiên nếu thời gian trích ly dài hơn, các hoạt chất sẽ không di chuyển ra ngoài nếu đã đạt trạng thái cân bằng và dễ bị oxy hóa, thủy phân,... thành các hợp chất khác khi kéo dài thời gian trích ly. Do hầu hết các hợp chất có hoạt tính sinh học rất nhạy cảm với nhiệt độ cao và thời gian trích ly dài nên sẽ dẫn đến sự phân hủy các hợp chất có hoạt tính sinh học (Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư, 2009). Khi trích ly quercetin với dung môi nước tới hạn từ vỏ hành tím thì tổng lượng quercetin chiết giảm khi tăng thời gian trích ly (Ko

*et al.*, 2011). Thời gian trích ly quercetin từ vỏ củ hành tím là 60 phút được thực hiện bởi Dmitrienko *et al.* (2011). Theo kết quả nghiên cứu của Dimitrieska-Stojković và Zdravkovski (2003) thì thời gian trích ly hợp chất quercetin đạt hiệu quả cao nhất là khoảng 50 - 60 phút khi trích ly quercetin bằng chất lỏng siêu tới hạn.

Ngoài tác động của nồng độ ethanol và thời gian trích ly, khi xem xét mô hình bề mặt đáp ứng (Hình 5 và 6) có thể thấy được ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình trích ly quercetin. Khi nhiệt độ tăng từ 40 - 50°C, hàm lượng quercetin trích ly tăng và tiếp tục nâng nhiệt độ lên 60°C khả năng thu hồi hợp chất quercetin có xu hướng giảm. Theo Cacace và Mazza (2003b), nhiệt độ tăng làm giảm độ nhớt và tăng vận tốc khuếch tán, tạo điều kiện thuận lợi cho các hợp chất từ nguyên liệu di chuyển vào trong dung môi. Một số nghiên cứu đã khẳng định ảnh hưởng nhiệt độ đến khả năng trích ly hợp chất sinh học từ nguyên liệu thực vật (Santoyo *et al.*, 2009; Zaibunnisa *et al.*, 2009). Tuy nhiên, các hợp chất sinh học trong đó có quercetin nhạy cảm với nhiệt độ, khi nhiệt độ tăng cao sẽ thúc đẩy các phản ứng oxy hóa, thủy phân... làm giảm hàm lượng các hợp chất sinh học trong dịch trích ly (Escribano-Bailon *et al.*, 2003). Theo Makris và Rossiter (2001b), khi gia nhiệt hợp chất quercetin sẽ xảy ra sự phân chia dẫn đến hình thành các acid protocatechic và acid carboxylic phloroglucinol nên làm giảm hàm lượng quercetin trong dịch trích ly. Tương tự, khi chiết xuất hợp chất quercetin bằng dung môi siêu tới hạn của Dimitrieska-Stojković và Zdravkovski (2003) thì hiệu quả thu hồi tốt nhất là ở 50°C. Nhiệt độ là yếu tố chính trong việc tối ưu hóa quá trình trích ly phenolic và khả năng chống oxy hóa (Hossain *et al.*, 2011).

Từ mô hình thí nghiệm được xây dựng, hàm lượng quercetin thu được cao nhất trong khoảng nhiệt độ từ 48÷52°C, nồng độ ethanol khoảng 48÷52% và thời gian trích ly tốt nhất trong khoảng từ 58÷64 phút. Kết quả phân tích tối ưu hóa theo mô hình Box-Behnken đã xác định được các thông số tối ưu cho quá trình trích ly hợp chất quercetin trong hành tím gồm: nhiệt độ 50,27°C, nồng độ ethanol 50,81% và thời gian 62,86 phút. Khi đó, hàm lượng quercetin đạt tối ưu là 1,255 mg/g. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Jin *et al.* (2011), hàm lượng quercetin thu được thay đổi trong khoảng 0,48÷3,61 mg/g.

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, biện pháp tiền xử lý đã hỗ trợ tích cực cho quá trình trích ly. Các yếu tố tác động như nhiệt độ, nồng độ ethanol

và thời gian đều ảnh hưởng quan trọng đến quá trình trích ly hợp chất quercetin từ hành tím. Phương pháp bề mặt đáp ứng và mô hình Box-Behnken được sử dụng hiệu quả để xác định các thông số tối ưu của quá trình trích ly hợp chất quercetin trong hành tím. Từ kết quả thu nhận, có khả năng áp dụng hiệu quả cho tiến trình chế biến các sản phẩm dinh dưỡng từ dịch trích này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akowuah, G.A., Z. Ismail, I. Norhayati and A. Sadikun, 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chemistry*, 93(2), pp.311-317.
- Aoyama, S. and Y. Yamamoto, 2016. Antioxidant Activity and Flavonoid Content of Welsh Onion (*Allium fistulosum*) and the Effect of Thermal Treatment. *Food Science and Technology Research*, 13(1), pp.67-72.
- Bai, X.L., T.L. Yue, Y.H. Yuan and H.W. Zhang, 2010. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols from Apple Pomace Using Response Surface Methodology and HPLC Analysis. *Journal of Separation Science*, 33(23-24), pp.3751-3758.
- Birdi, T.J., S. Brijesh and P.G. Daswani, 2006. Approaches towards the Preclinical Testing and Standardization of Medicinal Plants. *Foundation for Medicinal Research, India*.
- Brennan, J.G. 2006. *Food Processing Handbook*. In *Food Processing Handbook*, pp.1-582.
- Cacace, J.E. and G. Mazza, 2003a. Mass Transfer Process during Extraction of Phenolic Compounds from Milled Berries. *Journal of Food Engineering*, 59 (4), pp.379-389.
- Cacace, J.E. and G. Mazza, 2003b. Optimization of Extraction of Anthocyanins from Black Currants with Aqueous Ethanol. *Journal of Food Science*, 68 (1), pp.240-248.
- Dimitrieska-Stojković, E., and Z. Zdravkovski, 2003. Supercritical Fluid Extraction of Quercetin and Rutin from *Hyperici Herba*. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 26 (15), pp.2517-2533.
- Dmitrienko, S.G., V.A. Kudrinskaya and V.V. Apyari, 2011. Methods of Extraction, Preconcentration, and Determination of Quercetin - ResearchGate. *Journal of Analytical Chemistry*, 67 (4), pp.340-353.
- Escribano-Bailon, M.T. and C.E.L.E.S.T.I.N.O. Santos-Buelga, 2003. Polyphenol Extraction from Foods. *Methods in polyphenol analysis*, pp.1-16.
- Ewald, C., S. Fjelkner-Modig, K. Johansson, I. Sjöholm and B. Åkesson, 1999. Effect of Processing on Major Flavonoids in Processed Onions, Green Beans, and Peas. *Food Chemistry*, 64(2), pp.231-335.
- Frank, T.C., J.R. Downey and S.K. Gupta, 1999. Quickly Screen Solvents for Organic Solids. *Chemical Engineering Progress*, 95(12), pp.41-61.
- Guan, X. and H. Yao, 2008. Optimization of Viscozyme L-Assisted Extraction of Oat Bran Protein Using Response Surface Methodology. *Food Chemistry*, 106 (1), pp.345-351.
- Gupta, S., S. Cox and N. Abu-Ghannam, 2011. Effect of Different Drying Temperatures on the Moisture and Phytochemical Constituents of Edible Irish Brown Seaweed. *Food Science and Technology*, 44 (5), pp.1266-1272.
- Haard, N. F. 1976. Characteristics of Edible Plant Tissues. *Principles of Food Science*.
- Hänninen, O., K. Kaartinen, A.L. Raunmaa, M. Nenonen, R. Törrönen, A.S. Häkkinen, H. Adlercreutz and J. Laaksob, 2000. Antioxidants in Vegan Diet and Rheumatic Disorders. *Toxicology*, 155(1-3), pp.45-53.
- Hollman, P.C.H. and I.C.W. Arts, 2000. Flavonols, Flavones and Flavanols - Nature, Occurrence and Dietary Burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (7), pp.1081-1093.
- Hossain, M.B., C. Barry-Ryan, A.B. Martin-Diana and N.P. Brunton, 2011. Optimisation of Accelerated Solvent Extraction of Antioxidant Compounds from Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.), Marjoram (*Origanum Majorana* L.) and Oregano (*Origanum Vulgare* L.) Using Response Surface Methodology. *Food Chemistry*, 126 (1), pp.339-346.
- Kempuraj, D., M.L. Castellani, C. Petrarca, S. Frydas, P. Conti, T.C. Theoharides and J. Vecchiet, 2006. Inhibitory Effect of Quercetin on Tryptase and Interleukin-6 Release, and Histidine Decarboxylase mRNA Transcription by Human Mast Cell-1 Cell Line. *Clinical and Experimental Medicine*, 6 (4), pp.150-156.
- Ko, M.J., Cheigh, C.I., Cho, S.W. and Chung, M.S., 2011. Subcritical Water Extraction of Flavonol Quercetin from Onion Skin. *Journal of Food Engineering* 102(4): 327-333.
- Lee, S.U., J.H. Lee, S.H. Choi, J.S. Lee, M. Ohnisi-Kameyama, N. Kozukue, C.E. Levin and M. Friedman, 2008. Flavonoid Content in Fresh, Home-Processed, and Light-Exposed Onions and in Dehydrated Commercial Onion Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (18), pp.8541-8548.
- Lombard, K., E. Peffley, E. Geoffriau, L. Thompson and A. Herring 2005. Quercetin in Onion (*Allium Cepa* L.) after Heat-Treatment Simulating Home Preparation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 (6), pp.571-581.
- Makris, D.P. and J.T. Rossiter, 2001a. Comparison of Quercetin and a Non-Orthohydroxy Flavonol as Antioxidants by Competing in Vitro Oxidation



- Reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), pp.3370–3377.
- Makris, D.P. and J.T. Rossiter, 2001b. Domestic Processing of Onion Bulbs (*Allium Cepa*) and Asparagus Spears (*Asparagus Officinalis*): Effect on Flavonol Content and Antioxidant Status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), pp.3216–3222.
- Marur, C. J. and L. Sodek, 1995. Microwave Drying of Plant Material for Biochemical Analysis. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 7, pp.111–114.
- Müller, J., A. Heindl. and R.J. Bogers, 2006. Drying of Medicinal Plants. In *Medicinal and Aromatic Plants - Agricultural, Commercial, Ecological, Legal, Pharmacological and Social Aspects*, pp.237–252.
- Nile, S.H. and S.W. Park, 2013. Total Phenolics, Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Three Colored Onions (*Allium Cepa* L.). *Frontiers in Life Science*, 7 (3-4), pp.224–228.
- Pérez-Gregorio, R.M., M.S. García-Falcón, J. Simal-Gándara, A. S. Rodrigues and D. P.F. Almeida, 2010. Identification and Quantification of Flavonoids in Traditional Cultivars of Red and White Onions at Harvest. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (6), pp.592–598.
- Price, K.R., J.R. Bacon and M.J.C. Rhodes, 1997. Effect of Storage and Domestic Processing on the Content and Composition of Flavonol Glucosides in Onion (*Allium Cepa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (3), pp.938–942.
- Que, F., L. Mao, X. Fang and T. Wu, 2008. Comparison of Hot Air-Drying and Freeze-Drying on the Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Pumpkin (*Cucurbita Moschata* Duch.) Flours. *International Journal of Food Science and Technology*, 43 (7), pp.1195–1201.
- Robards, K., P.D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang and W. Glover, 1999. Phenolic Compounds and Their Role in Oxidative Processes in Fruits. *Food Chemistry*, 66 (4), pp.401–436.
- Santoyo, S., I. Rodríguez-Meizoso, A. Cifuentes, L. Jaime, G.G.B. Reina, F.J. Señorans and E. Ibáñez, 2009. Green Processes Based on the Extraction with Pressurized Fluids to Obtain Potent Antimicrobials from *Haematococcus Pluvialis* Microalgae. *LWT - Food Science and Technology*, 42 (7), pp.1213–1218.
- Soobrattee, M.A., T. Bahorun and O.I. Aruoma, 2006. Chemopreventive Actions of Polyphenolic Compounds in Cancer. *BioFactors* (Oxford, England), 27 (1-4), pp.19–35.
- Vallejo, F., F.A. Tomás-Barberán and C. García-Viguera, 2003. Phenolic Compound Contents in Edible Parts of Broccoli Inflorescences after Domestic Cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (14), pp.1511–1516.
- Vega-Gálvez, A., K.D. Scala, K. Rodríguez, R. Lemus-Mondaca, M. Miranda, J. López and M. Perez-Won, 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, 117 (4), pp.647-653.
- Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư, 2009. Nghiên cứu trích ly polyphenol từ chè xanh vụn - Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng quá trình trích ly polyphenol. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, tập 47, số 1, trang 81-86.
- Zaibunnisa, A.H., S. Norashikin, S. Mamot and H. Osman, 2009. An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). *LWT – Food Science and Technology*, 42 (1), pp.233-238.
- Yoo, K.S., E.J. Lee and B.S. Patil, 2010. Quantification of Quercetin Glycosides in 6 Onion Cultivars and Comparisons of Hydrolysis-HPLC and Spectrophotometric Methods in Measuring Total Quercetin Concentrations. *Journal of Food Science*, 75 (2), pp.160–165.