

## BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ CÔNG NGHỆ ĐẾN HIỆU SUẤT TRÍCH LY POLYPHENOL TỪ LÁ CHÈ (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze)

Giang Trung Khoa<sup>1\*</sup>, Bùi Quang Thuật<sup>2</sup>, Ngô Xuân Mạnh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Công nghệ thực phẩm

Email\* : giangtrungkhoa@gmail.com

Ngày gửi bài: 02.03.2017

Ngày chấp nhận: 27.04.2017

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, các thông số công nghệ cơ bản trong trích ly polyphenol từ lá chè *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze đã được khảo sát. Kết quả chỉ ra rằng, độ ẩm nguyên liệu 5%, kích thước nguyên liệu 0,5 - 1 mm, dung môi acetone 50%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:12, thời gian trích ly 2 giờ, nhiệt độ trích ly 45<sup>0</sup>C và số lần trích ly 3 lần là thích hợp cho quá trình này. Với các thông số này, hiệu suất trích ly polyphenol đạt 84,55% so với hàm lượng trong nguyên liệu.

Từ khóa: Polyphenol, hiệu suất trích ly, chè, *Camellia sinensis* (L).

### Preliminary Study on Effects of The Technological Parameters to Polyphenols Extraction Yield from Tea Leaves (*Camellia snensis* (L) O. Kuntze)

### ABSTRACT

In this study, the technological parameters for extraction of polyphenols from tea have been examined. The results indicated that the suitable parameters of this process were determined as follows: water content of the material of 5%, material size of 0.5 - 1.0 mm, 50% (v/v) acetone solvent, ration of material/solvent of 1:12, extraction time of 2 h, extraction temperature of 45<sup>0</sup>C and three times of extraction. In addition, with these parameters, the polyphenols extraction yield was 84.55%.

Keywords: Polyphenol, extraction efficiency, tea, *Camellia sinensis* (L).

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ lâu, tiềm năng ích lợi đối với sức khỏe con người của polyphenol/nước chiết chè đã được làm rõ. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, polyphenol chè có tác dụng tốt đối với bệnh ung thư (Yang *et al.*, 2006), bệnh tim mạch (Osada *et al.*, 2001), béo phì (Lin and Lin-Shiau, 2006) và có tác dụng làm chậm quá trình lão hoá, tăng tuổi thọ. Những tác dụng tuyệt vời này có được là dựa vào khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm và kháng virus của polyphenol (Mendel, 2007).

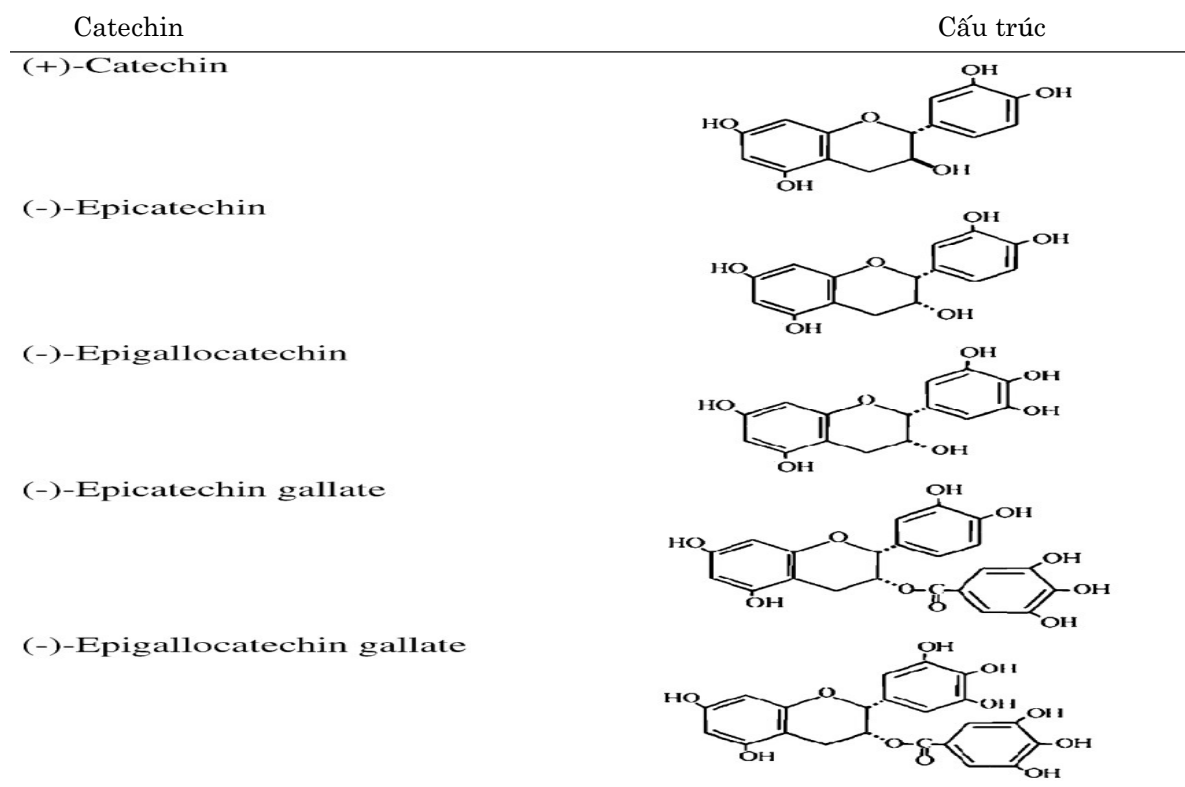
Các hợp chất phenol trong chè gồm các nhóm flavanol, flavandiol, các flavonoid khác và axit phenolic. Tuy vậy, phần lớn polyphenol trong lá chè là các flavanol, bao gồm 7 loại catechin chính: (-)-Catechin (C), (+)-Epicatechin (EC), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-Catechingallate (CG), (-)- Epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-Gallocatechingallate (GCG) et (-)- Epigallocatechin - 3- gallate (EGCG) (Lin *et al.*, 2003), trong đó, EGC và EGCG chiếm khoảng 70% catechin tổng số. Các catechin này đóng vai trò chủ yếu đối với đặc tính dược lý của nước chiết chè (Balentine *et al.*, 1997).

Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè (*Camellia sinensis* (L) o. Kuntze)

Khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn của polyphenol-catechin có thể được sử dụng như chất bảo quản tự nhiên, không độc hại, hoặc có thể được sử dụng trong việc tạo sản phẩm chức năng. Wang *et al.* (2000) đã chỉ ra rằng, chất chiết chè có thể bổ sung để cải thiện thời gian bảo quản và tạo hương vị mới cho bánh trung thu. Nhiều tác giả cũng chỉ ra rằng, catechin/chất chiết chè có tác dụng tốt trong bảo quản nông sản, thực phẩm. Chúng có khả năng hạn chế sự oxy hóa lipid, oxy hóa protein, ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây thối hỏng và vi sinh vật gây bệnh cho người... (Tang *et al.*, 2001; Mitsumoto *et al.*, 2005; Martin-Diana *et al.*, 2008).

Việt Nam là một trong 5 quốc gia sản xuất chè hàng đầu thế giới. Tuy nhiên người trồng chè ở nước ta vẫn chưa sống được nhờ cây chè do giá thấp và không ổn định (Trung tâm CN & PTCN, 2009). Trong khi đó, hàm lượng polyphenol trong chè rất cao, chiếm khoảng 25 - 30% chất khô (Vũ Thị Thu và cs., 2001). Do vậy, một trong các định hướng quan trọng trong việc

giá trị hóa cây chè ở nước ta là nghiên cứu khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học cao (polyphenol) từ lá chè. Một số nghiên cứu đã được tiến hành ở Việt Nam với chủ đề này. Tuy nhiên, các nghiên cứu chủ yếu tập trung hoặc với dung môi nước (Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư, 2009) nên hiệu suất thu hồi hạn chế (74%), hoặc sử dụng các kỹ thuật phức tạp chi phí đầu tư cao, khó áp dụng trong điều kiện Việt Nam hiện nay như trích ly có hỗ trợ vi sóng (Phạm Thành Quân và cs., 2006) hay trích ly dùng siêu âm (Trần Chí Hải và cs., 2016). Nghiên cứu của chúng tôi tập trung khảo sát toàn diện các yếu tố công nghệ từ đặc tính nguyên liệu (độ ẩm, kích thước vật liệu), dung môi và nồng độ dung môi, nhiệt độ và thời gian trích ly... đến hiệu suất thu hồi polyphenol. Từ đó tạo cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu tối ưu các điều kiện trích ly và xây dựng quy trình công nghệ tách chiết bằng dung môi các hợp chất polyphenol từ lá chè để ứng dụng trong các lĩnh vực khác nhau của đời sống xã hội như mỹ phẩm, dược phẩm và công nghệ thực phẩm.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các catechin chính trong chè (Yilmaz, 2006)

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu chè loại B có 15% phần bánh tẻ (TCVN 2843-79) của giống chè Shan thu hái vào tháng 5/2013 tại đồi chè thực nghiệm (Viện khoa học kỹ thuật Nông lâm nghiệp miền núi phía Bắc) được sử dụng cho nghiên cứu này. Sau thu hái, chè được diệt men ngay (hấp 100°C/3 phút), sau đó sấy chân không ở 75°C đến độ ẩm 3 - 5% (Gallenkamp - UK). Mẫu chè khô được nghiền sơ bộ và được bảo quản trong lọ tối màu ở 4°C.

Gallic acid monohydrate (GA) > 98%, thuốc thử Folin-Ciocalteu được mua từ Merck (Singapore). Các hóa chất khác là loại dùng cho phân tích có xuất xứ Trung Quốc.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Trong nghiên cứu này, các thông số công nghệ được nghiên cứu bằng phương pháp đơn yếu tố. Theo nguyên tắc, làm việc trên một yếu tố thí nghiệm và cố định các yếu tố còn lại, kết quả tốt nhất của thí nghiệm trước được rút ra làm thông số cho các thí nghiệm tiếp theo. Các thí nghiệm được nhắc lại 3 lần. Chỉ tiêu đánh giá là hàm lượng polyphenol tổng số trong dịch chiết và hiệu suất thu hồi polyphenol. Các thông số công nghệ được khảo sát là: kích thước nguyên liệu (< 0,25 mm, 0,25 - 0,5 mm, 0,5 - 1 mm và 1 - 1,5 mm); độ ẩm nguyên liệu (5%, 7%, 9% và 11%); dung môi và nồng độ dung môi (ethanol, acetone, methanol, acetonitrile và nước); nhiệt độ trích ly (35 - 55°C, bước nhảy 10°C và nhiệt độ sôi của dung môi); thời gian trích ly (0,5 giờ - 4 giờ, bước nhảy 0,5 giờ); tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1:6; 1:8; 1:10; 1:12; 1:14; 1:16; 1:18; 1:20); số lần trích ly (1 lần, 2 lần với tỷ lệ dung môi cho các lần trích ly - 50:50, 3 lần với tỷ lệ dung môi cho các lần trích ly - 6:2:2 và 4 lần với tỷ lệ dung môi cho các lần trích ly - 4:3:1,5:1,5).

#### 2.2.2. Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo phương pháp ISO 14502-1-2005. Mẫu chè khô (0,2 g) đã nghiền nhỏ (độ ẩm

5%, kích thước 0,5 - 1mm) được cho vào ống tube 10 ml. Nâng nhiệt của ống chiết bằng cách đặt trong bể ổn nhiệt ở 70°C trong 1 phút. Sau đó, thêm 5 ml dung dịch methanol 70% đã được ổn nhiệt ở 70°C trong 30 phút. Lắc đều trên máy vortex và trích ly trong 10 phút ở 70°C. Trong quá trình trích ly tiến hành lắc đều trên máy vortex tại các thời điểm 5 và 10 phút trích ly. Sau khi trích ly, làm nguội tự nhiên xuống nhiệt độ phòng và tiến hành ly tâm (Hermler Z400) ở 3.500 vòng/phút trong 10 phút. Gạn lấy phần dịch chiết vào bình định mức 10 ml, phần bã tiếp tục đem trích ly lần 2 với trình tự như trên. Gộp dịch chiết lại và cho thêm methanol 70% đến vạch chuẩn 10 ml. Hút chính xác 1 ml dịch chiết vào bình định mức 100 ml và lên thể tích tới vạch, lắc đều thu được dịch pha loãng. Tiến hành so màu theo trình tự: hút 1 ml dịch chiết pha loãng, thêm 5 ml thuốc thử Folin Ciocalteu 10% và lắc đều, tiếp tục thêm 4 ml dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%, lắc đều và để yên 1 h sau đó tiến hành so màu ở bước sóng 765 nm (UV-1800, Shimadzu - Japan). Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần và lấy kết quả trung bình. Hàm lượng polyphenol tổng số theo% chất khô được tính dựa vào đường chuẩn của axit gallic trong khoảng nồng độ 10 - 50 µg/ml theo công thức:

$$W_t = \frac{(D_m - D_0) \times V_m \times d \times 100}{S \times m \times 10000 \times W_m}$$

Trong đó:

W<sub>t</sub>: Hàm lượng polyphenol tổng số (% CK)

D<sub>m</sub>: Mật độ quang thu được của dung dịch mẫu

D<sub>0</sub>: Mật độ quang khi x bằng 0

S: Giá trị hệ số góc (a)

m: Khối lượng mẫu phân tích (g)

V<sub>m</sub>: Thể tích dịch chiết (ml)

d: Hệ số pha loãng

W<sub>m</sub>: Hàm lượng chất khô của mẫu phân tích (%)

10.000: Giá trị chuyển đổi µg sang g và chuyển về% CK.

Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè (*Camellia sinensis* (L) o. Kuntze)

### 2.2.3. Xác định hiệu suất trích ly polyphenol

Hiệu suất trích ly được xác định theo hàm lượng polyphenol trong nguyên liệu theo công thức.

$$H = \frac{X_1}{X_2} \times 100$$

Trong đó: H: Hiệu suất trích ly (%);  $X_1$ : Hàm lượng polyphenol được trích ly (% CK);  $X_2$ : Hàm lượng polyphenol trong nguyên liệu (% CK).

Hàm lượng polyphenol trong nguyên liệu được xác định theo phương pháp ISO 14502-1-2005.

### 2.3. Xử lý số liệu

Kết quả được thể hiện là trung bình của 3 lần nhắc lại. Phân tích phương sai 1 yếu tố (one-way ANOVA procedure) được tiến hành bằng phần mềm SAS 9.1. Sự khác nhau giữa các trung bình được xác định theo chuẩn Fisher's Least Significant Difference test.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của độ ẩm nguyên liệu đến hiệu suất trích ly polyphenol

Độ ẩm của nguyên liệu là một trong các yếu tố có ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly các hợp chất hữu cơ thực vật. Ảnh hưởng của nó thường thể hiện qua sự liên kết giữa nước với protein và các thành phần háo nước khác của vật liệu, từ đó ảnh hưởng đến sự dịch chuyển của dung môi

thấm sâu vào trong vật liệu, làm chậm quá trình khuếch tán và ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly (Lê Bạch Tuyết, 1996). Trong thí nghiệm này, chúng tôi đã thử nghiệm các mẫu chè có độ ẩm từ 5 - 11%, các yếu tố thí nghiệm khác được cố định là: trích ly 1 lần, kích thước nguyên liệu 1 - 1,5 mm, dung môi ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/10, nhiệt độ trích ly 35°C, thời gian trích ly 1,5 giờ, tốc độ lắc 200 vòng/phút.

Chúng tôi nhận thấy rằng, trong khoảng độ ẩm nghiên cứu, nguyên liệu có độ ẩm càng cao thì hiệu suất thu hồi polyphenol càng thấp ( $\alpha = 0,05$ ). Cụ thể, khi nguyên liệu có độ ẩm 7%, hiệu suất trích ly polyphenol đạt 61,09% so với hàm lượng trong nguyên liệu. Trong khi đó, ở độ ẩm 11%, hiệu suất này chỉ còn 55,92%. Điều này có thể là do ở độ ẩm cao sự thẩm thấu dung môi vào trong vật liệu giảm và ảnh hưởng đến độ phân cực của hệ dung môi - nước trong vật liệu, từ đó ảnh hưởng đến độ hòa tan các hợp chất phenol.

Mặt khác, trong các độ ẩm khảo sát, hiệu suất trích ly đạt cao nhất ở độ ẩm 5%. Đây cũng là độ ẩm an toàn cho quá trình bảo quản chè và chúng tôi đã lựa chọn kết quả này cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.2. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hiệu suất trích ly polyphenol

Cùng với độ ẩm của nguyên liệu, kích thước vật liệu cũng là yếu tố ảnh hưởng đến quá trình. Nghiên cứu vấn đề này chúng tôi thu được kết quả trong bảng 2.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của độ ẩm nguyên liệu đến hiệu suất trích ly polyphenol**

Độ ẩm (%)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT (% CK)	Hiệu suất TL (%)
5	13,67	66,03 <sup>a</sup>
7	12,65	61,09 <sup>b</sup>
9	11,96	57,77 <sup>c</sup>
11	11,58	55,92 <sup>d</sup>

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số; Hàm lượng polyphenol tổng số trong nguyên liệu là 20,7 ± 0,2% CK

**Bảng 2. Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hiệu suất trích ly polyphenol**

Kích thước NL (mm)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT (%CK)	Hiệu suất TL (%)
< 0,25	14,23	68,74 <sup>a</sup>
0,25-0,5	14,15	68,37 <sup>a</sup>
0,5-1	14,04	67,85 <sup>a</sup>
1-1,5	13,56	65,50 <sup>b</sup>

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ; PPT: polyphenol tổng số; Hàm lượng polyphenol tổng số trong nguyên liệu là  $20,7 \pm 0,2\%$  CK

Kết quả chỉ ra rằng, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu suất trích ly polyphenol trong các khoảng kích thước từ 0,25 - 1 mm. Tuy nhiên, hiệu suất này đã giảm đi đáng kể khi nguyên liệu có kích thước từ 1 - 1,5 mm. Cụ thể, với kích thước của vật liệu < 1 mm, hiệu suất trích ly polyphenol đạt trong khoảng 67,85 - 68,74%, trong khi nó chỉ còn 65,50% khi nguyên liệu có kích thước từ 1-1,5 mm. Điều này có thể là do ở kích thước lớn đã làm giảm diện tích tiếp xúc bề mặt giữa vật liệu và dung môi, từ đó làm giảm hiệu suất trích ly (Lê Bạch Tuyết, 1996). Từ kết quả này và với mục đích giảm chi phí trong việc nghiền nguyên liệu, kích thước nguyên liệu 0,5 - 1 mm đã được chúng tôi lựa chọn.

### 3.3. Ảnh hưởng của loại dung môi và nồng độ dung môi đến hiệu suất trích ly polyphenol

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, loại dung môi và nồng độ dung môi là một trong các yếu tố

quan trọng nhất trong việc trích ly polyphenol thực vật. Việc lựa chọn dung môi có thể ảnh hưởng đến cả loại và hàm lượng các hợp chất phenol tách chiết được (Nackz *et al.*, 1992; Liu *et al.*, 2000). Độ hòa tan của các hợp chất phenol chịu ảnh hưởng lớn bởi độ phân cực của dung môi sử dụng. Nghiên cứu vấn đề này chúng tôi thu được kết quả ở bảng 3.

Chúng tôi nhận thấy rằng, dung môi và nồng độ dung môi có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly polyphenol chè. Thực vậy, trong các loại dung môi thử nghiệm, khả năng trích ly của nước là thấp nhất, hiệu suất của nó chỉ đạt 39,81% trong khi trích ly bằng dung môi hữu cơ, hiệu suất này thấp nhất cũng đạt 53,54% (acetonitrile 30%).

Về các dung môi hữu cơ, kết quả chỉ ra rằng, trong tất cả các dung môi thử nghiệm, hiệu suất trích ly ở nồng độ 30% (v/v) đều cho hiệu suất kém nhất ( $\alpha = 0,05$ ). Mặt khác, với methanol, hiệu suất cao nhất cũng chỉ đạt 58,69% ở nồng độ 50%, trong khi nó lên tới

**Bảng 3. Ảnh hưởng của dung môi và nồng độ dung môi đến hiệu suất trích ly polyphenol (%)**

Nồng độ (% - v/v)	Dung môi				
	Ethanol	Methanol	Acetone	Acetonitrile nitrin	Nước
30	57,00 <sup>aC</sup>	53,67 <sup>bC</sup>	57,75 <sup>aC</sup>	53,54 <sup>bC</sup>	-
50	60,43 <sup>bB</sup>	58,69 <sup>cA</sup>	70,26 <sup>aA</sup>	60,55 <sup>bB</sup>	-
70	68,72 <sup>aA</sup>	54,95 <sup>cB</sup>	65,82 <sup>bB</sup>	68,68 <sup>aA</sup>	-
90	67,72 <sup>aA</sup>	54,89 <sup>dB</sup>	57,33 <sup>cC</sup>	60,32 <sup>bB</sup>	-
100	-	-	-	-	39,81

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (A, B, C) là khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa 5% (theo loại dung môi); Số liệu trong cùng một hàng có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d) là khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ; Nước được trích ly ở 80°C/40 phút (Row *et al.*, 2006)

Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè (*Camellia sinensis* (L) o. Kuntze)

khoảng 68.7% với ethanol và acetonitrile (nồng độ 70%) và hiệu suất này đạt cao nhất (70.26%) với acetone 50%. Kết quả của chúng tôi là khá phù hợp với nghiên cứu của Perva- Uzunalic *et al.* (2006). Các tác giả chỉ ra rằng, acetone 50% cho hiệu quả trích ly cao nhất đối với các hợp chất catechin và proanthocyanidins trong chè xanh khi so sánh giữa acetone, methanol, ethanol, acetonitrile ở các nồng độ 25%, 50%, 80% và 100%. Hiệu suất trích ly catechin bằng acetone 50% cao gấp 2,7 lần so với trích ly bằng nước ở nhiệt độ sôi.

Như vậy, xét về hiệu suất trích ly, tính an toàn và khả năng rẻ tiền dễ kiếm của dung môi, chúng tôi lựa chọn acetone ở nồng độ 50% cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.4 Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly polyphenol

Thời gian là yếu tố không những ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến chi phí và đặc biệt là chất lượng của dịch chiết (Naczka and Shahidi, 2004; Perva-Uzunalic *et al.*, 2006). Nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố này chúng tôi thu được kết quả trong bảng 4.

Chúng tôi nhận thấy rằng, thời gian trích ly có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất trích ly polyphenol từ chè. Thật vậy, khi tăng thời gian trích ly từ 0.5 giờ lên 2 giờ thì hiệu suất trích ly tăng đáng kể (từ 61,01% lên tới 78,69%). Tuy nhiên, nếu ta kéo dài thêm thời gian trích ly thì

lại có ảnh hưởng xấu đến hàm lượng polyphenol thu được. Cụ thể, khi thời gian trích ly tăng từ 2 giờ lên 4 giờ thì hàm lượng polyphenol đã giảm từ 16,29% CK xuống còn 15,00% CK, tương ứng với hiệu suất trích ly giảm từ 78,69% xuống 72,48%. Mặt khác, chúng tôi cũng nhận thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu suất trích ly giữa 2 giờ và 2,5 giờ ( $\alpha = 0,05$ ).

Labbé *et al.* (2006) đã chỉ ra rằng, sự tách chiết EGC và EC chịu ảnh hưởng lớn vào thời gian trích ly, trong khi EGCG, ECG và C lại phụ thuộc nhiều cả vào thời gian và nhiệt độ trích ly. Bên cạnh đó, kết quả của Perva-Uzunalic *et al.* (2006) cũng cho thấy, với dung môi nước, có sự phá hủy mạnh các catechin khi kéo dài thời gian trích ly quá 20 phút ở 80°C và quá 10 phút ở 95°C. Từ kết quả thu được, chúng tôi đã lựa chọn thời gian trích ly 2 giờ cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.5 Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất trích ly polyphenol

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly mà còn ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế và quá trình tinh sạch về sau. Nghiên cứu yếu tố này chúng tôi thu được kết quả trong bảng 5.

Kết quả chỉ ra rằng, khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1:6 đến 1:12 thì hiệu suất trích ly tăng rõ rệt (hiệu suất tăng từ 72,31% lên 81,32%). Tuy nhiên, khi tỷ lệ này tiếp tục tăng

**Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích ly polyphenol**

Thời gian TL (giờ)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT (% CK)	Hiệu suất TL (%)
0,5	12,63	61,01 <sup>g</sup>
1	12,92	62,43 <sup>f</sup>
1,5	14,54	70,26 <sup>e</sup>
2	16,29	78,69 <sup>a</sup>
2,5	16,27	78,61 <sup>a</sup>
3	15,98	77,22 <sup>b</sup>
3,5	15,18	73,33 <sup>c</sup>
4	15,00	72,48 <sup>d</sup>

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) là khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa 5%; PPT: polyphenol tổng số; Hàm lượng polyphenol tổng số trong nguyên liệu là 20,7 ± 0,2% CK

**Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hiệu suất trích ly polyphenol**

NL/DM	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT (%CK)	Hiệu suất TL (%)
1: 6	14,97	72,31 <sup>a</sup>
1: 8	15,61	75,41 <sup>f</sup>
1: 10	16,29	78,69 <sup>e</sup>
1: 12	16,83	81,32 <sup>d</sup>
1: 14	16,86	81,46 <sup>cd</sup>
1: 16	16,89	81,58 <sup>c</sup>
1: 18	17,00	82,12 <sup>b</sup>
1: 20	17,14	82,80 <sup>a</sup>

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) là khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ; PPT: polyphenol tổng số; Hàm lượng polyphenol tổng số trong nguyên liệu là  $20,7 \pm 0,2\%$  CK

từ 1:14 đến 1:20 thì hiệu suất tăng không đáng kể (chỉ dao động từ 81,46% đến 82,80%). Mặt khác, kết quả phân tích thống kê cũng chỉ ra, hiệu suất trích ly giữa tỷ lệ 1:12 và 1:14 là không khác nhau có nghĩa ( $\alpha = 0,05$ ). Do đó, xét về yếu tố kinh tế, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi = 1:12 là phù hợp nhất và chúng tôi lựa chọn tỷ lệ này cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly polyphenol

Cùng với thời gian trích ly, dung môi/nồng độ dung môi thì nhiệt độ trích ly cũng được xem là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến hiệu suất trích ly và hoạt tính sinh học của dịch chiết (Komatsu *et al.*, 1993; Perva-Uzunalic *et al.*, 2006). Bảng 6 thể hiện kết quả của nghiên cứu này.

Chúng tôi nhận thấy rằng, trong khoảng 35 - 45°C, khi tăng nhiệt độ thì hàm lượng polyphenol tổng số thu được tăng và dẫn đến

hiệu suất trích ly tăng. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng thêm nữa thì hàm lượng polyphenol và hiệu suất trích ly giảm. Điều này có thể là do trích ly ở nhiệt độ thấp đã làm chậm quá trình chuyển khối, lượng polyphenol chiết rút được ít, vì vậy hiệu suất trích ly thấp. Còn nếu nhiệt độ trích ly quá cao, dung môi bị bay hơi nhiều, đồng thời có thể một phần polyphenol đã bị oxi hoá và làm giảm hiệu suất trích ly. Kết quả phân tích cho thấy, hiệu suất đạt cao nhất (83,04%) khi nhiệt độ trích ly là 45°C và đạt thấp nhất (81,11%) khi trích ly ở 35°C.

Perva-Uzunalic *et al.* (2006) đã chỉ ra rằng, hiệu suất chiết catechin chè với nước đã giảm khi tăng nhiệt độ chiết từ 80°C lên 95°C. Ngoài ra, Komatsu *et al.* (1993) cũng nhận thấy, quá trình oxi hóa và epime hóa các catechin chè có thể diễn ra ngay khi nhiệt độ trích ly vào khoảng 80°C. Như vậy, nhiệt độ trích ly thích hợp đối với hệ dung môi acetone/nước là 45°C và chúng tôi sử dụng nhiệt độ này cho nghiên cứu tiếp theo.

**Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly polyphenol**

Nhiệt độ TL (°C)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT (% CK)	Hiệu suất TL (%)
35	16,79	81,11 <sup>d</sup>
45	17,19	83,04 <sup>a</sup>
55	17,02	82,22 <sup>b</sup>
56.2	16,89	81,61 <sup>c</sup>

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c, d, e) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ; PPT: polyphenol tổng số; 56,2°C: nhiệt độ sôi của acetone; Hàm lượng polyphenol tổng số trong nguyên liệu là  $20,7 \pm 0,2\%$  CK

Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè (*Camellia sinensis* (L) o. Kuntze)

**Bảng 7. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol**

Số lần trích ly (lần)	Chỉ tiêu theo dõi	
	PPT (% CK)	Hiệu suất TL (%)
1	17,19	83,04 <sup>c</sup>
2	17,36	83,89 <sup>b</sup>
3	17,50	84,55 <sup>a</sup>
4	17,51	84,59 <sup>a</sup>

Ghi chú: Số liệu trong cùng một cột có chữ ở mũ khác nhau (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ; PPT: polyphenol tổng số; Hàm lượng polyphenol tổng số trong nguyên liệu là  $20,7 \pm 0,2\%$  CK

### 3.7. Ảnh hưởng của số lần trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của số lần trích ly đến hiệu suất thu hồi polyphenol được trình bày qua bảng 7.

Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng số cũng như hiệu suất trích ly tăng đáng kể khi số lần trích ly tăng từ 1 - 3 lần. Tuy nhiên khi tăng thêm nữa (4 lần) thì hiệu suất trích ly tăng không có ý nghĩa thống kê ( $\alpha = 0,05$ ).

Điều này có thể giải thích như sau: trích ly là quá trình khuếch tán phân tử, chất cần trích ly hoà tan vào dung môi và khuếch tán ra khỏi tế bào. Khi polyphenol đạt nồng độ cân bằng giữa trong và ngoài tế bào thì quá trình trích ly kết thúc. Chính vì vậy, nếu số lần trích ly ít thì vào cuối quá trình, sự chênh lệch gradien nồng độ của chất cần trích ly thấp, dẫn đến hiệu suất trích ly không cao. Tuy nhiên, khi số lần trích ly quá nhiều thì hiệu suất trích ly tăng không đáng kể do lượng chất cần trích ly còn lại trong nguyên liệu không nhiều. Như vậy, trích ly 3 lần là phù hợp trong tách chiết các hợp chất polyphenol chè.

## 4. KẾT LUẬN

Tồn tại nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly polyphenol từ lá chè. Các thông số công nghệ phù hợp cho quá trình này là: độ ẩm nguyên liệu 5%, kích thước nguyên liệu 0,5 - 1 mm, dung môi acetone 50%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:12, thời gian trích ly 2 giờ, nhiệt độ trích ly 45°C và số lần trích ly là 3 lần. Với

các thông số này, hiệu suất trích ly polyphenol đạt 84,55% so với hàm lượng trong nguyên liệu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Chí Hải, Nguyễn Tấn Dân, Nguyễn Đình Nam, Lê Thị Hồng Anh, Phan Văn Mẫn (2016). Ảnh hưởng của sóng siêu âm đến quá trình trích ly polyphenol từ lá trà già. Tạp chí KHCN Đại học Đà Nẵng, 9(106): 69-72.
- Pham Thanh Quan, Tong Van Hang, Nguyen Hai Ha, Nguyen Xuan De, Truong Ngoc Tuyen (2006). Microwave - assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot. Tạp chí Phát triển KH & CN, 9(8): 69-75.
- Vũ Hồng Sơn, Hà Duyên Tư (2009). Nghiên cứu quá trình trích ly polyphenol từ chè xanh vụn. Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 47(1): 81-86.
- TCVN 2843-79. Đọt chè tươi - Yêu cầu kỹ thuật.
- Vũ Thị Thư, Lê Doãn Diên, Nguyễn Thị Gấm, Giang Trung Khoa (2001). Các hợp chất có trong chè và một số phương pháp phân tích thông dụng trong sản xuất chè ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội. Tr. 15-18.
- Trung tâm CN & PTCN chế biến chè - Hiệp hội chè Việt Nam (2009). Điều tra hiện trạng sản xuất, chế biến chè và đề xuất các giải pháp phát triển giai đoạn 2011-2020 và định hướng 2030.
- Lê Bạch Tuyết (1996). Quá trình trích ly, trong: Các quá trình công nghệ cơ bản trong sản xuất thực phẩm. Nhà xuất bản Giáo dục, tr. 93-101.
- Balentine, D.A., Wiseman, S.A. and Bouwens, L.C.M. (1997). The chemistry of tea Flavonoids' in Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 37: 693-704.
- ISO 14502-1-2005: Determination of substances characteristic of green and black tea - Part 1: Content of total polyphenols in tea - Colorimetric method using Folin Ciocalteu reagent.



- Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R., & Hara, K. (1993). Studies on preservation of constituents in canned drinks. Effects of pH and temperature on reaction-kinetics of catechins in green tea infusion. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 57(6): 907-910.
- Labbé, D., Tremblay, A. and Bazinet, L. (2006). Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions. *Separation and Purification Technology*, 49: 1-9.
- Lin, J-K. and Lin-Shiau, S-Y. (2006). Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. *Mol. Nutr. Food Res.*, 50: 211 - 217.
- Lin, Y-S., Tsai, Y-J., Tsay, J-S., Lin, J-K. (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Agric. Food Chem.*, 51: 1864-1873.
- Liu, F.F, Ang, C.Y.W., and Springer, D. (2000). Optimization of extraction conditions for active components in *Hypericum perforatum* using surfacemethodology. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48: 3364-3371.
- Martín-Diana, A.B., Daniel - Rico, D. and Barry-Ryan, C. (2008). Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 593-603.
- Mendel, F. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51: 116-134.
- Mitsumoto, M., O'Grady, M. N., Kerry, J. P., Buckley, D. J. (2005). Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Science*, 69: 773-779.
- Naczka, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.
- Naczka, M., Shahidi, F. and Sullivan, A. (1992). Recovery of rapeseed tannins by various solvent systems. *Food Chemistry*, 45: 51-54.
- Osada, K., Takahashi, M., Hoshina, S., Nakamura, M., Nakamura, S., Sugano, M. (2001). Tea catechins inhibit cholesterol oxidation accompanying oxidation of low density lipoprotein in vitro. *Biochemistry and Physiology Part C*, 128: 153-164.
- Perva-Uzunalic, A., Škerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F., Gruner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96: 597-605.
- Row, K.H., Jin, Y. (2006). Recovery of catechin compounds from Korean tea by solvent extraction. *Bioresource Technology*, 97: 790-793.
- Tang, S., Kerry, J. P., Sheehan, D., Buckley, D. J., Morrissey, P. A. (2001). Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. *Food Research International*, 34: 651-657.
- Wang, H., Provan, G. J., Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. *Trends in food science & Technology*, 11: 153-160.
- Yang, C. S., Sang, S., Lambert, J. D., Hou, Z., Ju, J. and Lu, G. (2006). Possible mechanisms of the cancer-preventive activities of green tea. *Mol. Nutr. Food Res.*, 50: 170 - 175.
- Yilmaz, Y. (2006). Novel uses of catechins in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 64-71.