

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.250

## KHẢO SÁT CÁC ĐIỀU KIỆN THÍCH HỢP CHO QUÁ TRÌNH TRÍCH LY CHLOROPHYLL BẰNG ETHANOL TỪ CÂY LÁ DỨA (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) VÀ ỔN ĐỊNH CÁC HỢP CHẤT CHỐNG OXY HÓA TRONG SẢN PHẨM KHÔ

Nguyễn Nhật Minh Phương<sup>1\*</sup> và Nguyễn Hữu Nhân<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Sinh viên ngành Công nghệ Thực phẩm Khóa 43, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Nhật Minh Phương (email: nnmphuong@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/06/2022

Ngày nhận bài sửa: 23/07/2022

Ngày duyệt đăng: 29/07/2022

### Title:

Determination of chlorophyll extraction conditions from pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) using ethanol solvent and stabilization of bioactive compounds in dried sample

### Từ khóa:

Chlorophyll, chất chống oxy hóa, lá dứa, sấy bột, trích ly

### Keywords:

Antioxidants, chlorophyll, extraction, foam-mat drying, pandan leaves

### ABSTRACT

This study aimed to investigate the extraction conditions of chlorophyll and antioxidants from pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) and stabilize their bioactivities by encapsulation and foam-mat drying. The study had two experiments (i) effect of ethanol concentration (40-100%), extraction temperature (70-90°C) and time (10-30 minutes), and material to solvent ratio (1:5-1:25, w/v) on the content of chlorophyll and antioxidants; and (ii) effect of albumin (5-15%) and carboxymethyl cellulose (CMC) (0,5-1,5%) on the stabilization of antioxidant activity. The result showed that the extraction with the ethanol of 80%, temperature of 80°C in 20 minutes with the material to solvent ratio of 1:20 (w/v) was suitable for extracting chlorophyll and antioxidants. Albumin of 10%, CMC of 0.5%, and foam-mat drying temperature of 60-65°C were selected for stabilizing bioactive compounds in foam powder.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly chlorophyll và chất chống oxy hóa từ cây lá dứa (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) cũng như quá trình vi bao kết hợp sấy bột nhằm ổn định hoạt tính sinh học có trong dịch trích. Nghiên cứu gồm (i) ảnh hưởng của nồng độ ethanol (40-100%), nhiệt độ trích (70-90°C), thời gian trích (10-30 phút) và tỷ lệ nguyên liệu và dung môi (NL:DM) (1:5-1:25, w/v) đến hàm lượng chlorophyll và hợp chất chống oxy hóa; và (ii) khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ albumin (5-15%) và carboxymethyl cellulose (CMC) (0,5-1,5%) đến sự ổn định các hợp chất chống oxy hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa đạt giá trị cao khi trích ly trong ethanol 80%, nhiệt độ trích ly 80°C, thời gian 20 phút với tỷ lệ NL:DM là 1:20 (w/v). Tỷ lệ bổ sung chất mang albumin 10%, CMC 0,5% và nhiệt độ sấy 60-65°C là phù hợp để ổn định các hợp chất sinh học trong sản phẩm cuối.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất tạo màu thực phẩm là những chất có nguồn gốc tự nhiên hoặc tổng hợp được sử dụng để tạo màu sắc và hình thức của thực phẩm, làm cho thực phẩm

trở nên hấp dẫn hơn đối với người tiêu dùng (Gordillo et al., 2018). Trước đây, những sản phẩm là món ăn truyền thống, để tạo màu sắc đẹp cho sản phẩm, người ta thường sử dụng trực tiếp chất màu

tự nhiên như nghệ, lá dứa hay lá cẩm. Hiện nay, hầu hết các sản phẩm thực phẩm được sản xuất, kinh doanh thường sử dụng chất màu tổng hợp vì rẻ tiền và dễ sử dụng. Tuy nhiên, việc sử dụng quá nhiều chất màu tổng hợp có thể gây ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng, thậm chí là gây ngộ độc thực phẩm (Meilana et al., 2017). Vì vậy, việc tìm chất màu có nguồn gốc tự nhiên đã trở nên phổ biến và nhanh chóng trở thành một xu hướng trên thị trường hiện nay (Agcam et al., 2017; Gordillo et al., 2018).

Màu xanh được sử dụng nhiều để nhuộm màu thực phẩm (Özkan & Bilek, 2015). Chất tạo màu xanh tự nhiên từ thực vật (chlorophyll) an toàn và mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe dựa trên khả năng kháng viêm và kháng oxy hóa của chúng (Hung et al., 2014). Lá dứa được sử dụng rộng rãi trong ẩm thực Đông Nam Á như một loại hương liệu và màu thực phẩm. Lá dứa ngày càng được quan tâm trong ngành công nghiệp thực phẩm vì cho chất màu tự nhiên và hương vị đặc trưng cho các món ăn truyền thống (Kantilal et al., 2009). Các nghiên cứu trong nước về khả năng ly trích hợp chất màu chlorophyll bước đầu có kết quả khả quan. Trong nghiên cứu của Nguyễn (2020) về khả năng trích ly chlorophyll từ lá dứa bằng một số loại dung môi, khi so sánh giữa ba dung môi là nước, ethanol 70% và acetone 70%, hàm lượng chlorophyll cao nhất thu được khi trích ly bằng dung môi ethanol 70%. Gần đây, Hai (2020) đã sử dụng sự hỗ trợ của enzyme cellulase để trích ly và thu nhận chlorophyll từ lá dứa.

Tuy nhiên, các nghiên cứu này chỉ dừng lại ở việc khảo sát loại dung môi cho quá trình trích ly. Các thông số quan trọng khác như độ phân cực của dung môi, nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ nguyên liệu và dung môi trong quá trình trích ly chưa được nghiên cứu sâu. Bên cạnh đó, dịch trích sau khi trích ly thường ở dạng lỏng nên rất khó ứng dụng và bảo quản trong thời gian dài. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu khảo sát các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình trích ly nhằm tìm ra điều kiện thích hợp nhất để trích ly chlorophyll và các hợp chất sinh học. Đồng thời, nghiên cứu quá trình vi bao sử dụng một số chất mang và phương pháp sấy bột với các tác nhân ảnh hưởng đến sự ổn định của chất màu và các hợp chất sinh học. Sản phẩm bột màu với hàm lượng chất chống oxy hóa cao dễ dàng ứng dụng và tiện lợi đối với người tiêu dùng.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Cây lá dứa (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) (lá nếp, dứa thơm) tươi với độ tuổi thương mại được

mua một lần 5 kg (sử dụng cho toàn thí nghiệm) tại chợ An Khánh, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ. Cây lá dứa không sâu bệnh, hư hỏng, vàng lá được rửa sạch với nước thường, để ráo và trữ trong tủ đông tại  $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ . Trước khi sử dụng trong các thí nghiệm, lá dứa cấp đông được nghiền nhỏ bằng máy xay (1L MX-GM1011-GRA, Panasonic, Nhật Bản) với thời gian xay trung bình là 10 giây cho 1 lần xay (tổng cộng 30 giây) đến kích thước  $< 2$  mm sử dụng rây inox có đường kính lỗ lưới là 2 mm.

Các hóa chất dùng trong phân tích gồm Folin Ciocalteu's phenol (Merck, Đức), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-aldrich, Mỹ), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (Roche Diagnostics, Đức), gallic acid (Tokyo Chemical Industry, Nhật), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Sigma-Aldrich, Mỹ), ethanol (99,5%, CEMACO, Việt Nam). Phụ gia dùng trong thực phẩm bao gồm albumin (My Protein, Anh) và carboxymethyl cellulose (Nippon Paper, Nhật Bản).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 hay nhiều nhân tố, kết quả của thí nghiệm trước làm cơ sở cho các thí nghiệm theo sau. Thí nghiệm 1 (TN 1): lá dứa tươi sau khi cấp đông (chuẩn bị trong phần 2.1) được nghiền nhỏ và ly trích bằng dung môi ethanol (40 - 99,5%) có tiêu chuẩn dùng trong thực phẩm. Tỷ lệ NL : DM cố định là 1 : 15 (w/v), nhiệt độ trích  $50^\circ\text{C}$  trong thời gian 10 phút. Kết quả nồng độ ethanol thích hợp của TN 1 được chọn cho TN 2 là khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ ( $70 - 90^\circ\text{C}$ ) và thời gian trích ly (10 - 30 phút). Tỷ lệ NL : DM trong TN 2 cố định là 1 : 15 (w/v). Nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian trích thích hợp từ các TN trước được chọn làm cơ sở cho TN 3 là khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ NL : DM (1 : 5 - 1 : 25, w/v).

Dịch trích sau khi thu được ở dạng lỏng và được sấy bột nhằm ổn định hợp chất màu chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa có trong dịch trích cây lá dứa. Nội dung nghiên cứu tiếp theo là khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung chất mang albumin (5%, 10% và 15%) và chất ổn định bột CMC (0,5%; 1,0% và 1,5%) đến sự ổn định hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm. Sau khi trích ly, dịch trích tiến hành cô quay chân không ( $50^\circ\text{C}$ ) nhằm bốc hơi ethanol có trong dịch trích. Trong quá trình tạo bột, tổng khối lượng mẫu trong ống nghiệm là 20 g, cố định thể tích dịch trích là 10 g (chiếm 50%), tỷ lệ albumin và CMC được bổ sung theo tỷ lệ được thí nghiệm, phần còn lại cho nước cất đến khi đủ 20 g. Tiến hành tạo bột với thiết bị đồng hóa Ultra Turrax

(D-500 – 8034210000 – DLAB, Trung Quốc) ở 10.000 rpm, 4 phút. Sau đó, bọt được trải đều ra đĩa và sấy ở nhiệt độ cố định là 60°C cho đến khi khối lượng không đổi (khoảng 4-5 giờ và độ ẩm 4-6%). Sau khi sấy, sản phẩm được nghiền mịn và bảo quản ở  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### 2.3. Phương pháp phân tích

#### 2.3.1. Xác định hàm lượng chlorophyll tổng

Hàm lượng chlorophyll được xác định theo phương pháp của Ritchie (2006), Aminot and Rey (2001) và Arnon (1949). Cân 1 g nguyên liệu cho vào ống nghiệm có nắp đậy. Tiến hành trích ly bằng dung môi ethanol với các điều kiện thí nghiệm được bố trí như trên. Sau khi trích ly, tiến hành ly tâm ở 4.000 g trong 10 phút (Hermle Z366, Đức) thu phần dịch trích và định mức đến vạch. Tiến hành đo độ hấp thụ của dịch trích ở bước sóng 646 và 663 nm bằng máy đo quang phổ (Inesa, Trung quốc). Nồng độ chlorophyll được tính toán theo công thức sau và biểu diễn như mg/g KLK.

– Hàm lượng chlorophyll a:

$$\text{Chl } a = (13,7 \times A_{663}) - (5,76 \times A_{646})$$

– Hàm lượng chlorophyll b:

$$\text{Chl } b = (-7,6 \times A_{663}) + (25,8 \times A_{646})$$

– Hàm lượng chlorophyll tổng:

$$\text{Chl} = (6,1 \times A_{663}) + (20,04 \times A_{646})$$

#### 2.3.2. Xác định hàm lượng phenolic tổng số (TPC)

Dịch trích sau khi thu được như mô tả trong phần 2.3.1 được xác định hàm lượng phenolic tổng số theo phương pháp của Nguyen et al. (2019), bằng cách xây dựng đường chuẩn với gallic acid (GA). Hàm lượng TPC được biểu diễn theo miligam đương lượng gallic acid trên gam chất khô (mg GAE/g KLK). Hỗn hợp phản ứng gồm 2 mL nước cất, 1 mL dịch trích, 0,5 mL Folin-Ciocalteu phenol 10%, 1,5 mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  được ủ trong 2 tiếng ở nhiệt độ phòng trước khi đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ. Hàm lượng phenolic trong mẫu được tính dựa theo đường chuẩn gallic acid với nồng độ chuẩn được chuẩn bị trong cùng điều kiện.

#### 2.3.3. Xác định khả năng chống oxy hóa

##### Phương pháp DPPH

Đánh giá khả năng loại gốc tự do bằng 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) theo phương pháp của Nguyen et al. (2019). DPPH có màu tím được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm. Khi có chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa DPPH, làm

giảm độ hấp thụ quang phổ. Hỗn hợp phản ứng gồm 100  $\mu\text{L}$  dung dịch mẫu và 2 mL dung dịch DPPH ( $10^{-4}$  M) được ủ trong tối khoảng 30 phút. Độ hấp thụ của dung dịch được ghi nhận ở bước sóng 517 nm bằng máy đo quang phổ. Trolox được sử dụng như chất kháng oxy hóa chuẩn (xây dựng đường chuẩn trong cùng điều kiện). Tỷ lệ giảm độ hấp thụ quang phổ của DPPH khi có và không có chất kháng oxy hóa được xem như hiệu suất phản ứng. Kết quả được biểu diễn như miligam đương lượng trolox trên gam chất khô (mg TE/g KLK).

##### Phương pháp ABTS

Đánh giá khả năng loại gốc tự do bằng ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) theo phương pháp của Nguyen et al. (2019). Dung potassium persulfate để oxy hóa ABTS tạo thành  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ .  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  sẽ phản ứng với hợp chất có khả năng tặng điện tử electron trong dung dịch ban đầu và làm mất màu xanh đậm của dung dịch ABTS. Hàm lượng ABTS còn lại trong dung dịch sẽ được xác định bằng phương pháp so màu ở bước sóng 734 nm. Hỗn hợp gồm 2 mL dung dịch  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (có độ hấp phụ khoảng  $0,70 \pm 0,02$  tại bước sóng 734 nm) và 20  $\mu\text{L}$  mẫu thử được ủ trong tối 5 phút. Độ hấp thụ của dung dịch được ghi nhận ở bước sóng 734 nm bằng máy đo quang phổ. Trolox được sử dụng như chất kháng oxy hóa chuẩn (xây dựng đường chuẩn trong cùng điều kiện). Kết quả được biểu diễn như miligam đương lượng trolox trên gam chất khô (mg TE/g KLK).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của điều kiện trích đến khả năng trích ly chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa từ cây lá dứa

#### 3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol

Ảnh hưởng của nồng độ dung môi ethanol đến khả năng trích ly chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa trong cây lá dứa được thể hiện qua Bảng 1. Hàm lượng chlorophyll thu được tăng dần khi tăng nồng độ ethanol từ 40-99,5%, với giá trị tăng tương ứng từ  $1,96 \pm 0,01$  đến  $24,96 \pm 0,14$  mg/g KLK. Tuy nhiên, không có sự khác biệt ý nghĩa khi trích ly giữa nồng độ ethanol 80 và 99,5% ( $p > 0,05$ ). Do tính chất vật lý của chlorophyll khó tan trong nước, chỉ tan trong các dung môi như ethanol, acetone, DMSO,... nên lượng chlorophyll thu được càng cao khi tăng dần nồng độ ethanol. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Ánh và ctv. (2016) trên đối tượng rong nước lợ và công bố của Kaczmar (2004) trên đối tượng thực vật phù du. Tuy nhiên, khả năng ly trích chlorophyll giảm khi sử dụng

ethanol tuyệt đối (100%) bởi vì độ phân cực của ethanol tuyệt đối không phù hợp với tính hòa tan của chlorophyll.

Các kết quả thu được về hàm lượng chất chống oxy hóa (Bảng 1) phù hợp với các báo cáo trước đây cho thấy rằng hệ dung môi nhị phân hiệu quả hơn để chiết xuất các hợp chất phenolic từ nguyên liệu thực vật so với khi sử dụng một dung môi nguyên chất (nước hoặc ethanol nguyên chất) (Goli et al., 2005; Pereira et al., 2013). Cụ thể, hàm lượng các chống oxy hóa thích hợp với độ phân cực của ethanol 60-80% nên khả năng được trích ly cao hơn (26,45-26,92 mg GAE/g KLK) so với trích ly trong ethanol tuyệt đối (24,67 mg GAE/g KLK).

Khả năng kháng oxy hóa của các hợp chất phenolic trong dịch trích không tăng theo hàm lượng

phenolic tổng được phân tích và thể hiện qua phương pháp bắt gốc tự do DPPH và ABTS (Bảng 1). Khả năng bắt gốc tự do của dịch trích từ cây lá dứa giảm dần từ dịch trích bằng ethanol 40% với  $30,33 \pm 1,56$  mg TE/g KLK (DPPH) và  $31,11 \pm 0,85$  mg TE/g KLK (ABTS) đến  $14,56 \pm 1,30$  mg TE/g KLK (DPPH) và  $18,47 \pm 0,87$  mg TE/g KLK (ABTS). Thông thường, hoạt tính kháng oxy hóa của các hợp chất phenolic sẽ tăng theo hàm lượng (Nguyen et al., 2019), nhưng trong một số trường hợp, ví dụ chất nền hay nguyên liệu ly trích có chứa những hợp chất phenolic không hoặc ít có khả năng kháng oxy hóa, nên mặc dù hàm lượng cao nhưng khả năng kháng oxy hóa thấp. Từ các kết quả được phân tích cho thấy ethanol với nồng độ 80% thích hợp làm dung môi cho quá trình trích ly chlorophyll.

**Bảng 1. Hàm lượng chlorophyll, phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích từ cây lá dứa tại các nồng độ ethanol khác nhau**

Nồng độ ethanol (%)	Chlorophyll (mg/g KLK)	TPC (mg GAE/g KLK)	DPPH (mg TE/g KLK)	ABTS (mg TE/g KLK)
Nước	$2,02 \pm 0,1^c$	-	-	-
40	$1,96 \pm 0,01^c$	$31,95 \pm 0,34^a$	$30,33 \pm 1,56^a$	$31,11 \pm 0,85^a$
60	$4,15 \pm 0,08^b$	$26,92 \pm 0,16^b$	$22,87 \pm 0,96^b$	$25,36 \pm 0,75^b$
80	$24,73 \pm 0,18^a$	$26,45 \pm 0,39^b$	$19,55 \pm 1,29^c$	$22,63 \pm 0,85^c$
99,5	$24,96 \pm 0,14^a$	$24,67 \pm 0,27^c$	$14,56 \pm 1,30^d$	$18,47 \pm 0,87^d$

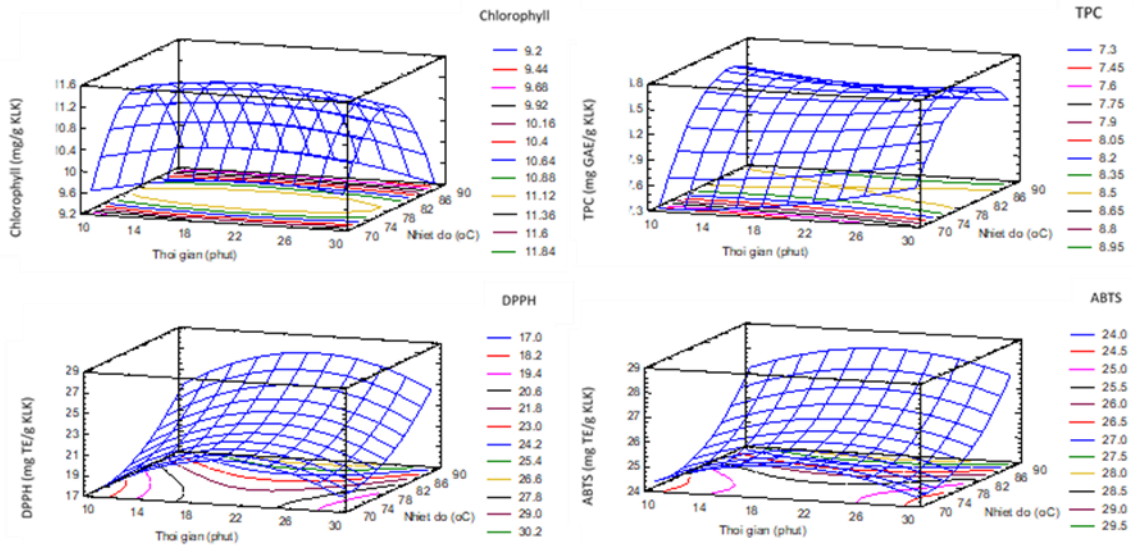
\*Kết quả trung bình của 3 lần lặp lại; Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức với độ tin cậy 95%; KLK: khối lượng khô; TPC: phenolic tổng số; GAE: đương lượng gallic acid; TE: đương lượng trolox; -: không phân tích

3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly

Sự thâm thấu của dung môi và sự hòa tan của chất tan vào trong dung môi tăng khi nhiệt độ tăng, vì thế làm tăng hiệu quả và tốc độ trích ly (Spigno et al., 2007). Kết quả sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến hàm lượng chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa được thể hiện qua Hình 1. Hàm lượng chlorophyll tăng khi nhiệt độ tăng đến 80°C. Nhiệt độ càng cao càng làm tăng khả năng hòa tan của các chất tan trong dung môi (Meilana et al., 2017). Hơn nữa, sự khuếch tán của các phân tử cũng được tăng cường khi nhiệt độ tăng vì hệ số khuếch tán tỷ lệ thuận với nhiệt độ (Geankoplis, 2003). Tuy nhiên khi nhiệt độ tăng đến 90°C, chất diệp lục bị chuyển hóa thành pheophytin có màu vàng olive, là nguyên nhân gây suy giảm lượng chlorophyll trong dịch trích (Levent, 2011).

Kết quả phân tích đối với các hợp chất phenolic và khả năng kháng oxy hóa cho thấy khi trích ly ở

nhiệt độ 80°C cho hiệu quả cao nhất (Hình 1), điều này tương tự như kết quả của Silva et al. (2007) khảo sát trên một loài thực vật họ đậu. Tuy nhiên, do một số họ flavonoid nhạy cảm với nhiệt (chủ yếu là anthocyanin và dẫn xuất flavan-3-ol) nên khi nhiệt độ tăng cao hơn 80°C thì hàm lượng phenolic tổng số giảm, đồng thời khả năng chống oxy DPPH và ABTS cũng giảm. Do đó, trong quá trình trích ly việc phải giữ nhiệt độ chiết xuất dưới một giới hạn nhất định là rất cần thiết cho hiệu suất và chất lượng của dịch trích. Bên cạnh đó, thời gian ảnh hưởng đến khả năng trích ly các hợp chất phenolic. Kết quả thể hiện ở Hình 1 cho thấy hiệu suất trích ly tăng từ 10 đến 20 phút và giảm sau 20 phút trích ly (tại nhiệt độ > 80°C). Nếu thời gian trích ly ngắn, lượng các hợp chất sinh học không được trích ly hoàn toàn, nhưng nếu thời gian quá dài kèm theo nhiệt độ cao làm tăng cơ hội phân hủy các hợp chất này, chất lượng và số lượng sẽ giảm. Kết quả này tương tự như báo cáo của Sơn và Tư (2009).



**Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến khả năng trích ly chlorophyll, TPC, DPPH và ABTS trong dịch trích cây lá dứa**

(TPC: phenolic tổng số; GAE: đương lượng gallic acid; TE: đương lượng trolox; KLK: khối lượng khô)

**3.1.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu và dung môi**

Động lực của quá trình trích ly là sự chênh lệch nồng độ của cấu tử trong nguyên liệu và trong dung môi (Mẫn và ctv., 2011). Do đó việc lựa chọn tỷ lệ NL:DM thích hợp có ý nghĩa rất lớn trong quá trình trích ly. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ NL:DM đến khả năng trích ly được thể hiện qua Bảng 2. Khi tăng tỷ lệ NL:DM từ 1:5 đến 1:20 thì hàm lượng chlorophyll và TPC thu được trong dịch trích lá dứa tăng lên, sau đó có khuynh hướng giảm xuống khi trích ly ở tỷ lệ NL:DM là 1:25. Kết quả đồng thời cho thấy khả năng trung hòa gốc tự do

DPPH, ABTS cũng có khuynh hướng tương tự (Bảng 2). Tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy gradient nồng độ tăng, dẫn đến tăng tốc độ khuếch tán cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn (Mazza & Cacace, 2003; Al-Farsi & Lee, 2008). Ngoài ra khi tăng lượng dung môi, lượng các thành phần hoạt tính sinh học tiếp xúc với dung môi trích ly cũng được gia tăng, dẫn đến tăng hiệu suất trích ly (Pan et al., 2007). Tuy nhiên, hàm lượng thành phần các hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng khi đã đạt được sự cân bằng (Herodež et al., 2003). Hơn nữa, nếu sử dụng lượng dung môi dư thừa sẽ gây lãng phí và không kinh tế.

**Bảng 2. Hàm lượng chlorophyll, phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích từ cây lá dứa tại các tỷ lệ NL:DM khác nhau**

Tỷ lệ NL:DM (w/v)	Chlorophyll (mg/g KLK)	TPC (mg GAE/g KLK)	DPPH (mg TE/g KLK)	ABTS (mg TE/g KLK)
1:5	2,91 ± 0,01 <sup>e*</sup>	10,00 ± 0,07 <sup>e</sup>	8,59 ± 0,29 <sup>c</sup>	9,75 ± 0,08 <sup>d</sup>
1:10	3,78 ± 0,03 <sup>d</sup>	11,96 ± 0,18 <sup>d</sup>	10,07 ± 0,29 <sup>c</sup>	10,88 ± 0,55 <sup>d</sup>
1:15	4,69 ± 0,08 <sup>c</sup>	17,07 ± 0,17 <sup>c</sup>	16,03 ± 0,45 <sup>b</sup>	15,73 ± 0,31 <sup>c</sup>
1:20	11,82 ± 0,23 <sup>a</sup>	28,42 ± 0,24 <sup>a</sup>	20,33 ± 1,46 <sup>a</sup>	24,71 ± 0,47 <sup>a</sup>
1:25	9,70 ± 0,03 <sup>b</sup>	24,88 ± 0,39 <sup>b</sup>	17,31 ± 0,74 <sup>b</sup>	20,92 ± 1,00 <sup>b</sup>

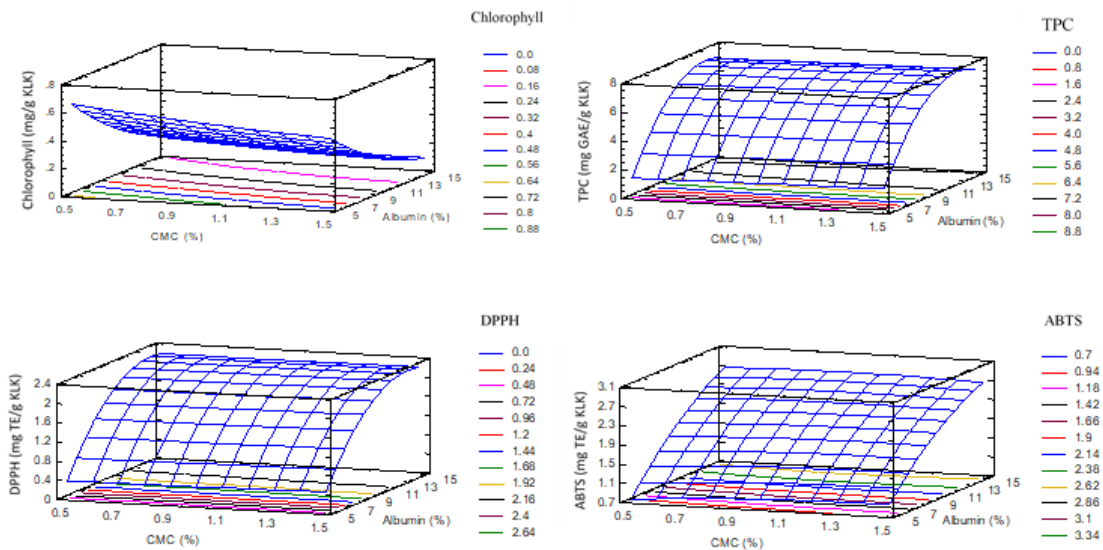
\*Kết quả trung bình của 3 lần lặp lại; Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức với độ tin cậy 95%; KLK: khối lượng khô; TPC: phenolic tổng số; GAE: đương lượng gallic acid; TE: đương lượng trolox

**3.2. Ảnh hưởng của quá trình sấy bột đến khả năng ổn định chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa có trong dịch trích cây lá dứa**

**3.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung albumin và carboxymethyl cellulose (CMC) đến chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa**

Ảnh hưởng của việc bổ sung chất mang albumin và CMC đến hàm lượng chlorophyll, hàm lượng phenolic tổng và hoạt tính chất chống oxy hóa được thể hiện qua Hình 2. Hàm lượng chlorophyll giảm khi tăng tỷ lệ bổ sung albumin và CMC, giảm từ 0,64 mg/g KLK (5% albumin và 0,5% CMC) đến 0,11 mg/g KLK (15% albumin và 1,5% CMC). Theo Meng et al. (2006), nồng độ chất mang cao hơn dẫn đến việc giảm cường độ màu của sản phẩm. Việc giảm hàm lượng chlorophyll khi tăng hàm lượng chất mang trong nghiên cứu này tương tự với báo cáo của Cervantes et al. (2016). Tác giả kết luận

rằng khi tăng nồng độ chất mang cũng gây ra hiện tượng giảm hàm lượng chlorophyll. Bên cạnh đó, hàm lượng bổ sung albumin có ảnh hưởng đến các hợp chất chống oxy hóa. Kết quả phân tích TPC ở mẫu bổ sung 5% albumin cho kết quả thấp nhất với 1,52 mg GAE/g KLK và tăng đến khoảng 6,70 mg GAE/g KLK khi bổ sung 10% albumin; kết quả này thay đổi không ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) khi tiếp tục tăng hàm lượng albumin lên 15% (7,00 mg GAE/g KLK). Kết quả này tương tự trong nghiên cứu của Chandrasekar et al. (2015). Chất mang (albumin) có vai trò bảo vệ các chất chống oxy hóa trong quá trình sấy, giúp ổn định hoạt tính của các hợp chất này (kết quả tương tự cho khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS) (Hình 2). Kadam et al. (2012) đã chứng minh kết quả tương tự đối với acid ascorbic trong bột quýt khô và Rajkumar et al. (2007) đã tìm thấy kết quả tương tự đối với beta-carotene trong bột nhân hạt xoài được thu nhận bằng phương pháp sấy bột. Điều này là do diện tích bề mặt của lớp bột tăng lên khi tăng tỷ lệ bổ sung albumin.



**Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung albumin và CMC đến hàm lượng chlorophyll, TPC, DPPH và ABTS trong dịch trích cây lá dứa**

(TPC: phenolic tổng số; GAE: đương lượng gallic acid; TE: đương lượng trolox; KLK: khối lượng khô)

**3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa trong quá trình sấy bột**

Quá trình sấy rất có ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm. Vì vậy, trong quá trình sấy bột nhiệt độ được khảo sát và thay đổi từ 55-70°C, thời gian sấy (240-300 phút) phụ thuộc vào độ ẩm dừng (4-6%). Hình 3 cho thấy sự thay đổi độ ẩm của mẫu theo thời gian đối với từng nhiệt độ sấy khác nhau.

Theo đó khi sấy ở nhiệt độ 55°C, độ ẩm của mẫu giảm rất chậm và cần thời gian dài hơn các mẫu khác (300 phút) để đạt được độ ẩm dừng. Ngược lại, khi sấy ở nhiệt độ >65°C, sản phẩm đạt được độ ẩm dừng nhanh hơn (240 phút) các mẫu ở các chế độ sấy khác.

Kết quả được trình bày ở Bảng 3 cho thấy hàm lượng chlorophyll thay đổi có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) khi tăng nhiệt độ từ 60°C đến 70°C. Hàm lượng

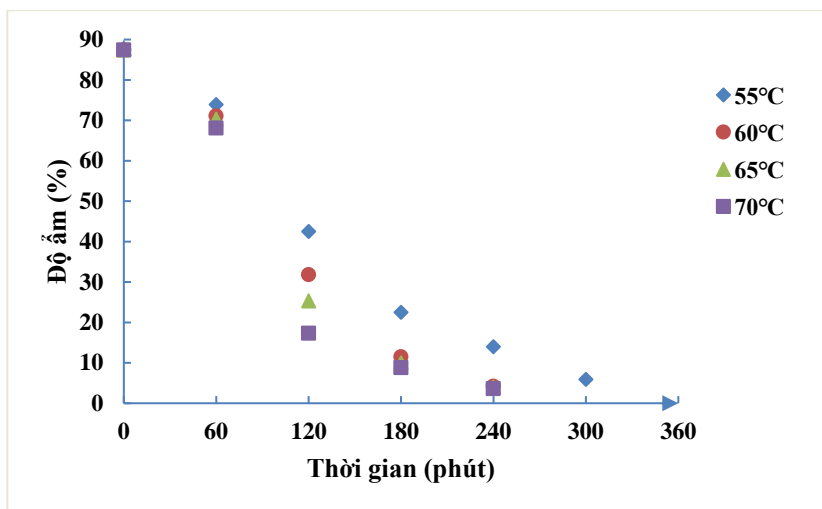
chlorophyll với  $1,03 \pm 0,015$  mg/g KLK ( $70^{\circ}\text{C}$ ) giảm còn  $0,79 \pm 0,013$  mg/g KLK ( $60^{\circ}\text{C}$ ). Sự suy giảm này là do chlorophyll tiếp xúc với nhiệt độ cao trong thời gian dài (240 phút), biến đổi thành pheophytin làm giảm nồng độ chlorophyll (Asami et al., 2003). Bên cạnh đó, hàm lượng phenolic tổng (TPC) và hoạt chất chống oxy hóa ở cả hai phương pháp DPPH và ABTS đều giảm khi tăng nhiệt độ từ

$65^{\circ}\text{C}$  đến  $70^{\circ}\text{C}$ . Sự suy giảm TPC là do các phân tử phenolic rất nhạy cảm với nhiệt độ, khi nhiệt độ cao làm cho các phân tử này bị phân hủy. Kết quả khảo sát của thí nghiệm này tương tự với kết quả của Kandasamy et al. (2014) trên hạt đu đủ và Tanganurat et al. (2019) trên dịch trích Ngô sen, đậu nành và hành tây.

**Bảng 3. Hàm lượng chlorophyll, phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa của dịch trích từ cây lá dứa dựa tại các nhiệt độ sấy khác nhau**

Nhiệt độ ( $^{\circ}\text{C}$ )	Chlorophyll (mg/g KLK)	TPC (mg GAE/g KLK)	DPPH (mg TE/g KLK)	ABTS (mg TE/g KLK)
55	$0,99 \pm 0,014^b$	$1,94 \pm 0,05^b$	$2,09 \pm 0,07^b$	$8,78 \pm 0,35^b$
60	$1,03 \pm 0,015^a$	$2,08 \pm 0,04^a$	$2,51 \pm 0,11^a$	$9,96 \pm 0,26^a$
65	$0,92 \pm 0,011^c$	$2,13 \pm 0,03^a$	$2,29 \pm 0,10^{ab}$	$8,97 \pm 0,22^b$
70	$0,79 \pm 0,013^d$	$1,19 \pm 0,05^c$	$1,60 \pm 0,07^c$	$6,42 \pm 0,26^c$

\*Kết quả trung bình của 3 lần lặp lại; Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức với độ tin cậy 95%; KLK: khối lượng khô; TPC: phenolic tổng số; GAE: đương lượng gallic acid; TE: đương lượng trolox



**Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy bột đến hàm lượng ẩm trong sản phẩm bột từ cây lá dứa**

#### 4. KẾT LUẬN

Sử dụng dung môi ethanol có tiêu chuẩn dùng trong thực phẩm với nồng độ 80% tại nhiệt độ  $80^{\circ}\text{C}$  trong thời gian 20 phút, tỷ lệ NL:DM là 1:20 (w/v) có thể ly trích hợp chất màu chlorophyll và các hợp chất chống oxy hóa. Bên cạnh đó, nhằm ổn định hoạt tính sinh học cũng như hợp chất màu chlorophyll từ

cây lá dứa, việc sử dụng albumin (10%) làm chất mang và CMC (0,5%) làm chất ổn định bột trong quá trình sấy bột ( $60-65^{\circ}\text{C}$ ) đem lại hiệu quả cao. Sản phẩm bột màu thu được có hàm ẩm thấp, thuận lợi cho việc bảo quản. Hàm lượng chlorophyll cao và giữ được hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất. Sản phẩm có thể được sử dụng như chất tạo màu hay phụ gia thực phẩm tự nhiên.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Al-Farsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108, 977-985. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.009>

Agcam, E., Akyildiz, A., & Balasubramaniam, V. M. (2017). Optimization of anthocyanins extraction from black carrot pomace with thermosonication. *Food Chemistry*, 237, 461-470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.098>

- Aminot, A., & Rey, F. (2001) Chlorophyll a: Determination by spectroscopic methods. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, No. 30, 17pp. DOI: <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-278>
- Ánh, L. T. H., Nhơn, H. T. N., Kiên, N. M. & Kiên, T. T. (2016). Nghiên cứu thu nhận bột màu chlorophyll từ rong nước lợ *Cheatomorpha* sp. Đồng Bằng Sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 10.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Asami, D., Hong Y., Barret, D. & Mitchell, A. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1237-1241. <https://doi.org/10.1021/jf020635c>
- Cervantes, V. S. F., Delgado-Licon, E., Solís-Soto, A., Medrano-Roldan, H. & Andrade-González, I. (2016). Effect of spray drying temperature and agave fructans concentration as carrier agent on the quality properties of blackberry powder. *International Journal of Food Engineering*, 12(5), 451–460. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0287>
- Chandrasekar, V., Martín-González, M. S., Hirst, P., & Ballard, T. S. (2015). Optimizing Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidants from Red Delicious and Jonathan Apple Pomace. *Journal of Food Processing Engineering*, 38(6), 571-582. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12187>
- Geankoplis, C. J. (2003). *Transport processes and separation process principles (include unit operations)* (4<sup>th</sup> ed.). Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.
- Goli, A. H., Barzegar, M. & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3), 521-525. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.020>
- Gordillo, B., Sigurdson, G. T., Fei Lao, González-Míret, M. L., Heredia, F. J. & Giusti, M. M. (2018). Assessment of the color modulation and stability of naturally copigmented anthocyanin-grape colorants with different levels of purification. *Food Research International*, 106, 791-799. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.057>
- Hai, T. C. (2020). *Nghiên cứu quy trình sản xuất chất màu chlorophyll từ bèo tấm*. Kết quả nghiên cứu khoa học và Phát triển công nghệ, Trung tâm thông tin và thống kê Khoa học và Công nghệ.
- Herodež, Š. S., Hadolin, M., Škerget, M., & Knez, Ž. (2003). Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *Food Chemistry*, 80(2), 275-282. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00382-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00382-5)
- Hung, S. M., Hsu, B. D. & Sanboh, L. (2014). Modelling of isothermal chlorophyll extraction from herbaceous plants. *Journal of Food Engineering*, 128(2), 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.12.005>
- Kaczmar (2004). *Phytoplankton Pigments*. <http://water.iopan.gda.pl/~kaczmar/bdo/pigments.htm>.
- Kadam, D. M., Kaushik, P., & Kumar, R. (2012). Evaluation of guava products quality. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(1), 7-11. <https://doi.org/10.5923/j.food.20120201.02>
- Kandasamy, P., Varadharaju, N., Kalemullah, S. & Maladhi, D. (2014). Optimization of process parameters for foam-mat drying of papaya pulp. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2526-2534. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0812-y>
- Kantilal, V. W., Nadaf, A. B., Thengane, R. J. & Narendra, J. (2009). *Pandanus amaryllifolius* Roxb. cultivated as a spice in coastal regions of India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(5), 735–740. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9431-5>
- Levent, İ. A. (2011). Chlorophyll: Structural Properties, Health Benefits and Its Occurrence in Virgin Olive Oils. *Academic Food Journal*, 9(2), 26-32.
- Mazza, G. & Cacace, J. E. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 379-389. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00497-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1)
- Mẫn, L. V. V., Đạt, L. Q., Hiền, N. T. H., Nguyệt, T. N. M., & Trà, T. T. T. (2011). *Công nghệ chế biến thực phẩm*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Meilana, D. P., Agus, D., Ilham, W., & Ahmed, A. E. (2017). Extraction of chlorophyll from pandan leaves using ethanol and mass transfer study. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 82(7-8), 921-931. <https://doi.org/10.2298/JSC161203038P>
- Meng, Y. Z., Jiao, J., Xiao, M., Shu, D., & Li, L. (2006). Preparation and characterization of biodegradable foams from calcium carbonate reinforced poly(propylene carbonate) composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(6), 5240-5247. <https://doi.org/10.1002/app.24771>
- Nguyen, N. M. P., Le, T. T., Vissenaekens, H., Gonzales, G. B., Van Camp, J., Smaghe, G., &



- Raes, K. (2019). *In vitro* antioxidant activity and phenolic profiles of tropical fruit by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1169-1178. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14093>
- Nguyễn, P. B. (2020). Tối ưu hoá điều kiện thủy phân lá dứa thom bằng enzyme cellulase ứng dụng trong sản xuất bột lá dứa thom sấy phun. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường. Trường Đại học Trà Vinh.
- Özkan, G. & Bilek, S. E. (2015). Enzyme-assisted extraction of stabilized chlorophyll from spinach. *Food Chemistry*, 176, 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.059>
- Pan, Y., Zhang, X., Wang, H., Liang, Y., Zhu, J., Li, H., Zhang, H. & Wu, Q. (2007). Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil. *Food Chemistry*, 105(4), 1518-1524. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.039>
- Pereira, J. A., González-Álvarez, J., Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentão, P. & Andrade, P. B. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 126-132. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.021>
- Rajkumar, P., Kailappan, R., Viswanathan, R. & Raghavan, G. S. V. (2007). Drying characteristics of foamed alphonso mango pulp in a continuous type foam mat dryer. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1452-1459. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.027>
- Ritchie, R. J. (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis research*, 89(1), 27-41. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9065-9>
- Silva, E. M., Rogez, H. & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55(3), 381-387. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.01.008>
- Son, V. H. & Tur, H. D. (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*, 47(1), 81-86.
- Spigno, G., Tramelli, L. & Faveri, D. M. D. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>
- Tanganurat, P., Lichanporn, I., Nanthachai, N. & Charoenchai, C. (2019). Enhanced survival of probiotics by encapsulation with plant extracts during foam-mat drying and under simulated gastrointestinal conditions. *Malaysian Applied Biology*, 48(4), 53 – 60.