

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN CÁC HOẠT CHẤT VÀ ĐIỀU KIỆN THU NHẬN POLYPHENOL TỪ CỦ CHUỐI HỘT *Musa balbisiana*

Nguyễn Quang Liêm, Hồ Lê Bảo Ngọc, Hà Thị Minh Thu,
Nguyễn Phạm Khánh Linh, Hoàng Thị Ngọc Nhơn*

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: nhonhtn@huitt.edu.vn

Ngày nhận bài: 15/12/2023; Ngày chấp nhận đăng: 15/4/2024

TÓM TẮT

Các thành phần trong củ chuối hột *Musa balbisiana* được thu nhận và định tính để xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học như: Saponin, flavonoid, tanin và carotenoid... Trong đó, polyphenol được ghi nhận là hợp chất chiếm tỉ lệ cao nhất trong dịch chiết củ chuối. Ngoài ra, polyphenol còn được chứng minh có các hoạt tính sinh học đa dạng như: khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng mốc, hạ đường huyết... Từ đó cho thấy tiềm năng lớn của việc thu nhận polyphenol từ củ chuối và ứng dụng vào các lĩnh vực y học và dược phẩm. Trong quá trình thu nhận polyphenol, các yếu tố được khảo sát bao gồm loại dung môi (ethyl acetate, ethanol và nước); nồng độ dung môi (60; 70; 80; 90; 99,5%); tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM) (1/10; 1/20; 1/30; 1/40; 1/50, w/v); nhiệt độ (40; 50; 60; 70; 80 °C) và thời gian (30; 60; 90; 120; 150 phút). Kết quả nghiên cứu cho thấy, ethanol là dung môi thích hợp trong việc thu nhận polyphenol. Hàm lượng polyphenol thu được ở nồng độ ethanol 80%, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi 1/30 w/v, nhiệt độ trích ly 60 °C trong thời gian 90 phút là $57,58 \pm 0,69$ mgGAE/g_{CK}. Ở điều kiện tối ưu (ethanol 82,05%, nhiệt độ trích ly 61,64 °C trong 97,88 phút), hàm lượng polyphenol thu được cao nhất với 62,84 mgGAE/g_{CK}.

Từ khóa: Củ chuối, ethanol, *Musa balbisiana*, polyphenol, trích ly.

1. MỞ ĐẦU

Chuối hột (*M. balbisiana*) có nguồn gốc từ vùng nhiệt đới Đông Nam Á và Úc. Các bộ phận của cây chuối hột được sử dụng như một vị thuốc trong y học cổ truyền [1]. Việc ứng dụng các chiết xuất từ cây chuối hột trong điều trị các bệnh như chứng tăng lipid máu, bệnh tiểu đường, tim mạch, loét dạ dày... đang được các nhà nghiên cứu trong và ngoài nước đánh giá cao [2, 3]. Dược tính của chúng chủ yếu đến từ các hoạt chất (phytochemical) như: Flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, anthraquinone, steroid, glycoside, phytosterol, phenol và terpenoid... [4]. Ở Việt Nam, dịch chiết từ củ chuối hột được nghiên cứu có khả năng hạ đường huyết, tuy nhiên nghiên cứu này chưa đưa ra được chính xác thành phần dịch chiết của củ chuối hột cũng như điều kiện thu nhận hoạt chất sinh học có trong nguyên liệu này [5].

Mặt khác, polyphenol là hợp chất phytochemical được ghi nhận xuất hiện nhiều nhất trong các loại rau củ và các loại hạt [6]. Chuối chứa một lượng lớn polyphenol tổng và hợp chất flavonol. Lượng polyphenol tổng trong chuối chiếm khoảng 7 mgGAE/100g trọng lượng tươi (FW) [7]. Các hợp chất polyphenol tự do chiếm 11,8-90,4 mgGAE/100gFW [8]. Theo Kandasamy và Aradhya (2014), hàm lượng polyphenol trong củ chuối dao động từ 2,11-234,6 mgGAE/g tùy thuộc các giống khác nhau [9]. Đặc điểm chung của chúng là trong phân tử có

vòng thơm (vòng benzen) chứa một hay hai, ba hoặc nhiều nhóm hydroxyl (-OH) gắn trực tiếp vào vòng benzen. Tùy thuộc vào số lượng và vị trí tương hỗ của các -OH với bộ khung hóa học mà các tính chất lý hoá học hoặc hoạt tính sinh học thay đổi. Polyphenol được coi là chất chống oxy hóa mạnh trong các thử nghiệm *in vitro* và có khả năng chống oxy hóa tốt hơn vitamin C, E và carotenoid [10]. Về đặc tính dược, chúng có khả năng chống lại quá trình oxy hóa các lipoprotein mật độ thấp (LDL), giúp cơ thể giữ lại các lipoprotein mật độ cao (HDL) quan trọng và loại bỏ LDL có vấn đề [11]. Ngoài ra, polyphenol cũng được phát hiện có tác dụng chống đông máu, chống tế bào ung thư, phòng ngừa bệnh tim mạch và loãng xương [12, 13].

Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích xác định điều kiện thu nhận polyphenol hiệu quả nhất và xác định các hoạt chất có trong dịch trích củ chuối hột, từ đó làm nền tảng cho các nghiên cứu ứng dụng củ chuối hột vào các sản phẩm thực phẩm và dược phẩm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Củ chuối hột khoảng 2 năm tuổi được thu hoạch vào mùa khô tại xã Định An, huyện Lập Vò, tỉnh Đồng Tháp và vận chuyển trong ngày đến Trung tâm thí nghiệm. Tại đây, củ chuối được xử lý sơ bộ, rửa sạch, sấy ở 60 °C cho đến khi độ ẩm $\leq 10\%$, nghiền và sàng bột củ chuối qua rây 0,3 mm. Bột củ chuối được bảo quản kín trong túi PET và dùng cho toàn bộ thí nghiệm.

Hóa chất đạt chuẩn phân tích gồm: acid oleanolic, vanillin, acid acetic khan, acid perchloric, ethanol (EtOH), ethyl acetate (EtOAc), n-butanol (BuOH), thuốc thử Folin-Ciocalteu, dung dịch gallic acid (GA), dung dịch H₂O₂, quercetin (QE).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định thành phần dịch chiết

Cân 1,0 g bột củ chuối (tính theo khối lượng chất khô), thực hiện trích ly ngâm tĩnh với các dung môi khảo sát lần lượt là nước cất, EtOAc 80% và EtOH 80% với tỷ lệ nguyên liệu:dung môi (1/20 w/v). Mẫu được ngâm trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng thời gian trên, hỗn hợp được lọc qua giấy lọc Whatman ($\phi 11 \mu\text{m}$). Dịch lọc sau đó được mang đi định tính và định lượng các hoạt chất sinh học trong các mẫu dịch chiết. Các phương pháp định tính được thực hiện theo mô tả trong Bảng 1.

Bảng 1. Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch chiết củ chuối

Nhóm chất	Thí nghiệm	Hiện tượng
Saponin steroid	5 mL dung dịch NaOH 0,5 N (pH 13) + 3 giọt mẫu	Xuất hiện bọt và bền
Saponin triterpenoid	5mL dung dịch HCl 0,1N (pH 1) + 3 giọt mẫu	Xuất hiện bọt và bền
Tannin	Phản ứng với vanilin/H ₂ SO ₄	Dương tính khi thấy màu đỏ đậm
Flavonoid	Phản ứng với dung dịch kiềm NaOH 10%	Xuất hiện màu vàng đậm
Alkaloid	Phản ứng với thuốc thử Wagner	Xuất hiện kết tủa màu nâu
Steroid	Phản ứng với thuốc thử Liebermann-Burchard	Xuất hiện màu xanh lục, hồng, da cam hoặc đỏ (màu bền vững)
Glycoside	Phản ứng Keller-Killian	Xuất hiện màu nâu đỏ giữa hai lớp chất lỏng
Anthocyanin	1 mL dịch chiết + 5 mL pH 1	Xuất hiện màu đỏ
	1 mL dịch chiết + 5 mL pH 4,5	Xuất hiện màu tím
Phenolic	50 μL cao chiết + 500 μL H ₂ O + 2-3 giọt FeCl ₃ (5%)	Tủa màu xanh đen
Carotenoid	Phản ứng với acetone	Dịch trong có màu vàng đậm

2.2.2. *Khảo sát các điều kiện trích ly polyphenol bằng phương pháp ngâm tĩnh*

Cân 1,0 g bột củ chuối (tính theo khối lượng chất khô), thêm dung môi (đã chọn ở thí nghiệm mục 2.2.1) với nồng độ khảo sát (60; 70; 80; 90; 99,5%) với tỉ lệ NL/DM là 1/20 w/v. Sau đó, mẫu được trích ly ngâm tĩnh ở nhiệt độ 50 °C, 60 phút trong bể ổn nhiệt. Kết thúc quá trình trích ly, hỗn hợp được làm nguội về nhiệt độ phòng, toàn bộ dịch trích được đem đi ly tâm ở tốc độ 5000 vòng trong thời gian 15 phút. Dịch sau ly tâm được lọc qua giấy lọc Ø110 mm và được định mức đến thể tích thích hợp để xác định hàm lượng polyphenol bằng phương pháp đo quang phổ UV-VIS.

2.3. Phương pháp định lượng

2.3.1. *Định lượng saponin tổng số*

Phương pháp định lượng saponin tổng số dựa trên phản ứng tạo màu bằng phản ứng Rosenthaler giữa dung dịch mẫu và dung dịch thử với thuốc thử vanillin/acid acetic khan, acid perchloric, đo độ hấp thụ ở bước sóng 550 nm [14]. Hàm lượng saponin toàn phần trong mẫu thử (%) tính theo acid oleanolic được tính theo công thức sau:

$$\text{Hàm lượng Saponin} = \frac{C_x \times V \times N \times 100}{m_{ck}} \text{ (mg/g}_{ck}\text{)}$$

Trong đó: C_x : nồng độ saponin (mg/mL); V : thể tích của dịch chiết (mL); N : độ pha loãng; m_{ck} : khối lượng nguyên liệu tính theo khối lượng chất khô (g).

2.3.2. *Định lượng flavonoid tổng số*

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ theo mô tả của Chang và cộng sự (2002), bằng cách xây dựng đường chuẩn với quercetin (QE). Đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 415 nm [15]. Hàm lượng flavonoid tổng được tính theo công thức:

$$F = c \times V/m$$

Trong đó: F : hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g chiết xuất); c : giá trị x từ đường chuẩn với quercetin (mg/mL); V : thể tích dịch chiết (mL); m : khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.3.3. *Định lượng polyphenol tổng số*

Xác định hàm lượng polyphenol được thực hiện theo phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Feduraev và cộng sự (2019) với một số hiệu chỉnh. Đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 765 nm [16]. Hàm lượng polyphenol tổng được tính theo công thức:

$$P = a \times V/m$$

Trong đó: P : hàm lượng polyphenol tổng (mg gallic acid/g chiết xuất); a : giá trị x từ đường chuẩn với gallic acid ($\mu\text{g/mL}$); V : thể tích dung dịch cao chiết (mL); m : khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.3.4. *Định lượng carotenoid tổng*

Hàm lượng carotenoid được xác định theo mô tả bởi Kotíková và cộng sự (2011) [17]. Công thức xác định hàm lượng carotenoid:

$$C_a = 17,75 \times A_{662} - 2,35 \times A_{645}$$

$$C_b = 18,61 \times A_{645} - 3,96 \times A_{662}$$

$$C_{x+c} = (1000 \times A_{470} - 2,27 \times C_a - 81,4 \times C_b)/227$$

$$X = C_x + c \times V \times F_m \times (100-w)/100$$

Trong đó: C_a: hàm lượng chlorophyll a (µg/mL); C_b: hàm lượng chlorophyll b (µg/mL); C_{x+c}: hàm lượng carotenoid (µg/mL); V: thể tích dịch chiết (mL); F: hệ số pha loãng; m: khối lượng mẫu (g); w: độ ẩm của nguyên liệu (%).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phương pháp thống kê ANOVA được xử lý bởi phần mềm SPSS 20, tiến hành đánh giá số liệu tối ưu dựa trên phần mềm JMP 10.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định thành phần của dịch chiết

Thực hiện thu nhận dịch chiết từ củ chuối hột theo mô tả ở mục 2.2.1. Sau đó, tiến hành định tính các chất có hoạt tính sinh học trong dịch chiết như: Saponin, polyphenol, tannin, flavonoid, alkaloid, steroid, glycoside, anthocyanin, carotenoid theo mô tả ở mục 2.3.1. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Thành phần hóa học của dịch chiết từ củ chuối hột trích ly trong các dung môi ethyl acetate, ethanol và nước

STT	Nhóm chất	EtOAc	EtOH	Nước	STT	Nhóm chất	EtOAc	EtOH	Nước
1	Saponin	++	++	+	6	Steroid	-	-	-
2	Polyphenol	+++	+++	+	7	Glycosid	-	-	-
3	Tannin	++	+++	+	8	Anthocyanin	-	-	-
4	Flavonoid	+++	+++	++	9	Carotenoid	+++	+	-
5	Alkaloid	-	-	-	<i>Chú thích: (+) vừa phải (++) nhiều (+++) rất nhiều (-) không có</i>				

Từ kết quả Bảng 3 cho thấy không có sự hiện diện của alkaloid, glycosid, anthocyanin và steroid trong dịch chiết chuối hột. Carotenoid không có trong chiết xuất nước và xuất hiện trong chiết xuất EtOH và xuất hiện nhiều ở chiết xuất EtOAc. Các hợp chất saponin, polyphenol, tanin và flavonoid xuất hiện với đặc điểm đặc trưng rõ rệt thể hiện qua cường độ màu quan sát được. Qua nghiên cứu cho thấy hiệu quả của quá trình tách chiết phụ thuộc lớn vào việc lựa chọn dung môi. Các dung môi phân cực như ethanol và ethyl acetate mang lại hiệu suất cao hơn và trích ly các hợp chất hoạt tính sinh học hiệu quả hơn so với nước. Kết quả định lượng các hợp chất này được thể hiện qua Bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng saponin tổng, polyphenol tổng và flavonoid tổng của chiết xuất củ chuối

Hàm lượng	EtOAc	EtOH	Nước
Saponin (mg/g _{CK})	43,34 ± 0,34 ^a	46,38 ± 0,90 ^b	17,94 ± 0,34 ^c
Polyphenol (mgGAE/g _{CK})	0,98 ± 0,09 ^a	54,86 ± 0,60^b	17,96 ± 0,51 ^c
Flavonoid (mgQE/g _{CK})	2,58 ± 0,07 ^a	28,96 ± 0,70 ^b	17,73 ± 1,47 ^c
Carotenoid (µg/g _{CT})	9,21 ± 0,04 ^a	2,20 ± 0,01 ^a	1,83 ± 0,06 ^b

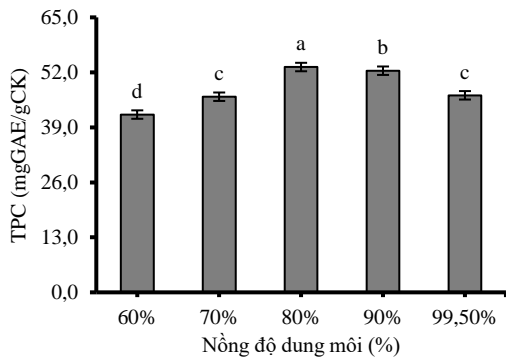
Chú thích: Các chữ cái khác nhau trong các hàng thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở p < 0,05.

Từ Bảng 4, có thể nhận thấy polyphenol có hàm lượng cao nhất trong dịch chiết củ chuối, tiếp theo là saponin, flavonoid và cuối cùng là carotenoid. Dung môi cho hiệu quả trích ly cao nhất là ethanol. Do đó, các thí nghiệm tiếp theo được thực hiện để tìm điều kiện trích ly thu nhận polyphenol bằng dung môi ethanol.

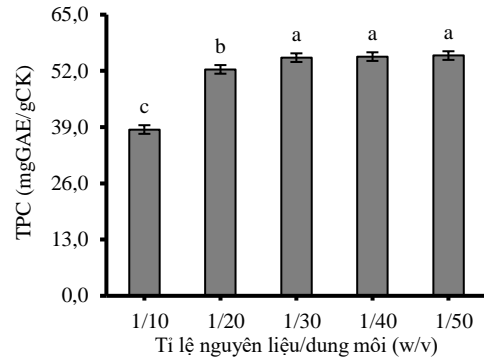
3.2. Kết quả khảo sát điều kiện trích ly polyphenol từ củ chuối

3.2.1. Ảnh hưởng của dung môi đến quá trình trích ly polyphenol

Nồng độ dung môi càng lớn, tốc độ thẩm thấu vào tế bào càng mạnh. Tuy nhiên, nếu nồng độ dung môi quá cao lại ảnh hưởng lên thành tế bào, các chất trong tế bào khó thoát ra ngoài được. Vì vậy, cần xác định nồng độ phù hợp để trích ly. Ngoài ra, lượng dung môi càng lớn sẽ thuận lợi cho quá trình trích ly các chất hòa tan nhưng có nhược điểm cần tốn năng lượng và thời gian cho quá trình cô đặc loại bỏ dung môi sau này. Trong nghiên cứu này, dung môi ethanol với các nồng độ khảo sát lần lượt là 60%, 70%, 80%, 90%, 99,5% với tỉ lệ NL/DM khảo sát là 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50 w/v. Kết quả được thể hiện qua Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến trích ly polyphenol từ củ chuối



Hình 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến trích ly polyphenol từ củ chuối

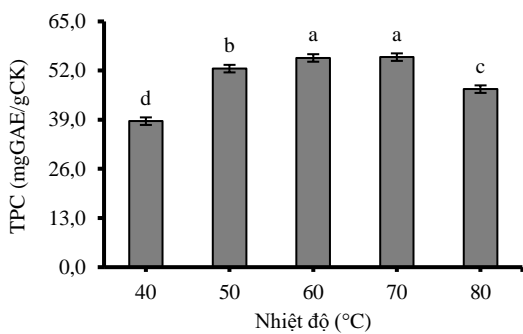
Hàm lượng polyphenol có xu hướng tăng dần khi nồng độ dung môi tăng từ 60% đến 80%, đạt cao nhất tại nồng độ ethanol 80% ($53,26 \pm 0,37$ mgGAE/g_{CK}). Khi nồng độ dung môi ethanol 99,5% thì hàm lượng polyphenol giảm còn $46,58 \pm 0,83$ mgGAE/g_{CK} (Hình 1). Nguyên nhân chủ yếu là do nồng độ dung môi càng lớn, tốc độ thẩm thấu vào tế bào càng mạnh, dung môi dễ thẩm thấu vào sâu bên trong tế bào và thực hiện quá trình trích ly polyphenol. Tuy nhiên, nếu nồng độ dung môi quá cao, độ phân cực sẽ bị thay đổi đáng kể, ảnh hưởng đến việc trích ly [18]. Vì vậy, dung môi ethanol 80% được chọn cho các bước thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả Hình 2 cho thấy hàm lượng polyphenol có sự thay đổi khi tiến hành tăng dần tỉ lệ NL/DM trong quá trình chiết xuất. Ở các tỉ lệ NL/DM từ 1/10 đến 1/30 w/v, hàm lượng polyphenol tăng từ $38,44 \pm 0,3$ mgGAE/g_{CK} đến $55,06 \pm 0,38$ mgGAE/g_{CK}. Tuy nhiên, ở khoảng tỉ lệ từ 1/40 đến 1/50 w/v thì hàm lượng polyphenol tăng nhưng không đáng kể $55,30 \pm 0,22$ mgGAE/g_{CK} (1/40 w/v) và $55,54 \pm 0,44$ mgGAE/g_{CK} (1/50 w/v). Nguyên nhân do dung môi dùng trong quá trình trích ly cần một lượng vừa đủ để ngấm vào nguyên liệu và kéo các thành phần hòa tan trong nguyên liệu đi vào trong dịch trích ly. Khi lượng dung môi sử dụng quá ít, hàm lượng polyphenol thu được trong dịch trích ly không cao; khi tăng dung môi vừa đủ, dung môi sẽ ngấm vào trong thành tế bào thực vật của nguyên liệu, cùng với sự hình thành gradient nồng độ từ trong tế bào ra ngoài môi trường, dung môi kéo theo các thành phần hòa tan của nguyên liệu đi vào dịch trích. Kết quả này cũng tương tự đối với nghiên cứu trên nguyên liệu *Melissa officinalis* của Jovanovic (2022) và nghiên cứu của Elferjane (2022) trên nguyên liệu nha đam thì hàm lượng polyphenol thu được ở đạt mức cao nhất khi tỉ lệ NL/DM

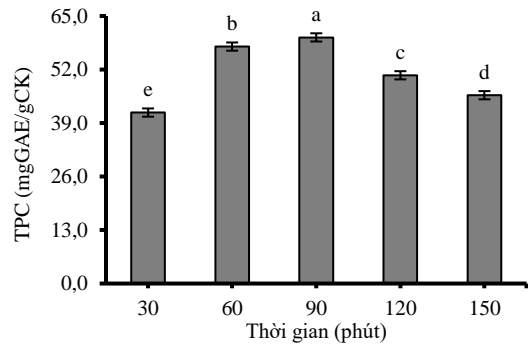
ở mức 1/30 w/v [19, 20]. Thông qua phân tích phương sai ANOVA cho thấy không có sự khác biệt có nghĩa tại các tỷ lệ 1/30, 1/40 và 1/50 w/v nên tỷ lệ 1/30 w/v được chọn làm thông số cho các thí nghiệm tiếp theo, vì nếu tiếp tục tăng dung môi để tăng hiệu quả trích ly là không có ý nghĩa, do hàm lượng các chất tan trong tế bào nguyên liệu có giới hạn.

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến trích ly polyphenol từ củ chuối

Các hợp chất polyphenol đều là những chất có khả năng chống oxy hóa và bản thân chúng cũng rất dễ bị oxy hóa dưới tác động của nhiệt độ. Vì vậy, việc lựa chọn nhiệt độ phù hợp để quá trình trích ly đạt hiệu quả tốt nhất, các mức nhiệt độ được khảo sát từ 40 °C đến 80 °C với bước nhảy là 10 °C. Ngoài ra, thời gian trích ly cũng đóng một vai trò trong toàn bộ quá trình trích ly, thời gian trích ly hợp lý không chỉ mang lại lợi ích về hiệu quả trích ly mà còn có lợi về mặt kinh tế và năng lượng. Các mức thời gian được khảo sát lần lượt là 30, 60, 90, 120 và 150 phút. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến trích ly polyphenol từ củ chuối được thể hiện qua Hình 3, Hình 4.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến trích ly polyphenol từ củ chuối



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến trích ly polyphenol từ củ chuối

Kết quả Hình 3 cho thấy rằng hàm lượng polyphenol có sự thay đổi tích cực khi tăng dần nhiệt độ trong quá trình trích ly. Từ nhiệt độ 40 °C đến 70 °C, hàm lượng polyphenol tăng đáng kể trong quá trình khảo sát, đạt cao nhất ($42,80 \pm 0,30$ mgGAE/g_{CK}) tại 70 °C. Tuy nhiên, hàm lượng polyphenol thu được có xu hướng giảm ở nhiệt độ 80 °C ($58,01 \pm 0,44$ mgGAE/g_{CK}). Kết quả kiểm định ANOVA cho thấy không có sự khác biệt có nghĩa về hàm lượng polyphenol đối với các mức nhiệt độ khảo sát từ 60 °C đến 70 °C. Tốc độ chuyển động của phân tử lớn hơn ở nhiệt độ cao hơn để polyphenol khuếch tán nhanh hơn từ tế bào đến chất chiết. Mặt khác, ở nhiệt độ cao hơn có thể đẩy nhanh dòng dung môi, do đó làm tăng hàm lượng polyphenol và nhiệt độ cao hơn có thể làm giảm mật độ chất lỏng có thể làm giảm hiệu quả chiết xuất. Do đó, nghiên cứu này lựa chọn nhiệt độ trích ly là 70 °C. Kết quả này cũng tương đồng với kết luận trong nghiên cứu của Gironi F. và cộng sự, nhiệt độ trích ly 70 °C thì hàm lượng polyphenol thu được từ gỗ hạt dẻ đạt cao nhất [21].

Bên cạnh đó, khi tăng thời gian trích ly từ 30 phút lên 90 phút thì hàm lượng polyphenol tăng mạnh từ $41,54 \pm 0,38$ mgGAE/g_{CK} đến $57,58 \pm 0,69$ mgGAE/g_{CK}, nhưng nếu tiếp tục tăng thời gian thì hàm lượng polyphenol bắt đầu giảm từ $50,60 \pm 0,55$ mgGAE/g_{CK} ở 120 phút đến $45,76 \pm 0,52$ mgGAE/g_{CK} ở 150 phút (Hình 4). Do sử dụng phương pháp ngâm chiết nên điều kiện chiết tách polyphenol trong thời gian quá ngắn sẽ không đủ để dung môi xâm nhập vào trong tế bào thì lượng polyphenol thu được sẽ thấp, hiệu quả không cao. Ngược lại, khi kéo dài thời gian trích ly, thời gian tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi tăng, do đó làm tăng quá trình khuếch tán của các phân tử chất trích từ trong nguyên liệu vào trong dung dịch và làm tăng hiệu suất trích ly. Tuy nhiên, thời gian trích ly được kéo dài hơn nữa cũng không tăng hiệu quả trích ly do lượng hợp chất polyphenol trong nguyên liệu có giới hạn và thời gian trích

dài trong điều kiện nhiệt độ khảo sát (60 °C) làm cho các polyphenol trích ly được có xu hướng biến tính dưới ảnh hưởng của nhiệt độ dẫn đến lượng polyphenol tổng số giảm [21]. Như vậy, trong nghiên cứu này nhiệt độ và thời gian trích ly polyphenol từ củ chuối thích hợp lần lượt là 60 °C và 90 phút.

3.3. Tối ưu điều kiện trích ly polyphenol từ củ chuối

Để xác định được điều kiện trích ly polyphenol tối ưu từ củ của cây chuối hột, cần tiến hành kết hợp các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly đã được khảo sát đơn yếu tố có ảnh hưởng lớn đến thu nhận polyphenol từ củ chuối như nồng độ dung môi, nhiệt độ và thời gian trích ly, từ đó tìm ra điều kiện tối ưu khi có sự tương tác giữa các yếu tố. Kết quả của hàm lượng polyphenol thu được ở các mức thí nghiệm được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Bảng ma trận quy hoạch thực nghiệm và kết quả

Số TN	Biến mã hóa			Polyphenol (mgGAE/gck)	Số TN	Biến mã hóa			Polyphenol (mgGAE/gck)
	X ₁	X ₂	X ₃			X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	-1	43,34	11	0	-1,68	0	52,43
2	-1	-1	1	48,86	12	0	1,68	0	56,21
3	-1	1	-1	54,21	13	0	0	-1,68	48,76
4	-1	1	1	55,54	14	0	0	1,68	58,88
5	1	-1	-1	46,3	15	0	0	0	61,71
6	1	-1	1	58,72	16	0	0	0	60,64
7	1	1	-1	57,77	17	0	0	0	62,59
8	1	1	1	52,21	18	0	0	0	63,59
9	-1,68	0	0	54,54	19	0	0	0	60,35
10	1,68	0	0	57,58	20	0	0	0	63,72

Bảng 6. Kết quả phân tích ý nghĩa các hệ số của phương trình hồi quy

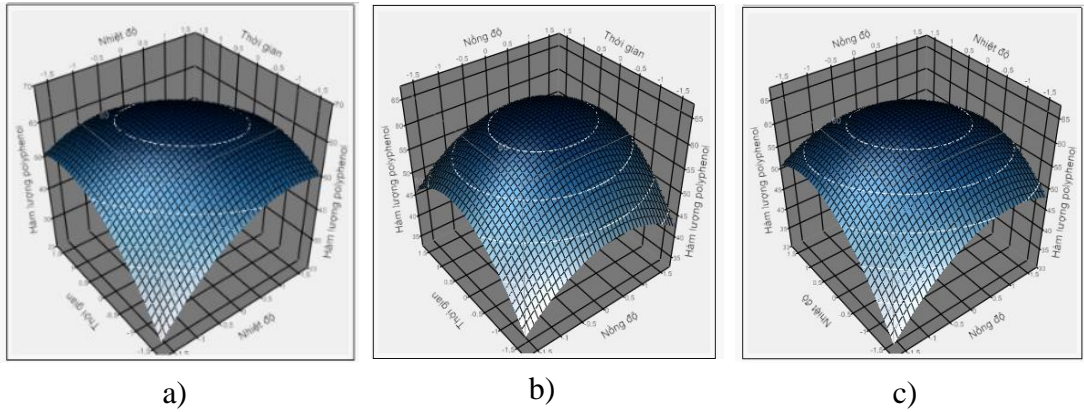
Hệ số hồi quy	Coeff. SC	Std. Err.	P-value	Hệ số hồi quy	Coeff. SC	Std. Err.	P-value
b ₀	55,31	0,72	<,0001	b ₁₃	0,09	0,62	0,8913
b ₁	1,45	0,48	0,0124	b ₂₃	1,13	0,62	0,1017
b ₂	1,56	0,48	0,0086	b ₁₁	-1,82	0,47	0,0029
b ₃	1,82	0,48	0,0034	b ₂₂	-2,04	0,47	0,0014
b ₁₂	-1,14	0,62	0,0991	b ₃₃	-1,28	0,47	0,0207

Theo Joglekar và May, để mô hình phù hợp thì giá trị R² ít nhất phải đạt 0,8 [22]. Ngoài ra, mức độ phù hợp của mô hình cũng được đánh giá bởi giá trị F của sự không tương thích (Lack of fit). Giá trị P được sử dụng để kiểm tra mức ý nghĩa của từng hệ số hồi quy. Cụ thể, các yếu tố có giá trị P < 0,05 được xem là có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu. Trong 9 hệ số hồi quy (trừ b₀) có 3 hệ số hồi quy không có ý nghĩa với độ tin cậy P > 0,05 là b₁₂, b₁₃ và b₂₃, điều này chứng tỏ sự tương tác giữa X₁X₂, X₁X₃ và X₂X₃ ảnh hưởng không đáng kể đến hàm mục tiêu. Đối với các giá trị âm, các hệ số hồi quy b₁₁, b₂₂ và b₃₃ là những yếu tố có tác động tiêu cực đến hàm mục tiêu, làm giảm hàm lượng polyphenol thu được. Hệ số hồi quy b₃ có giá trị dương lớn nhất, cho thấy X₃ (thời gian trích ly) có tác động tích cực lớn đến hàm mục tiêu.

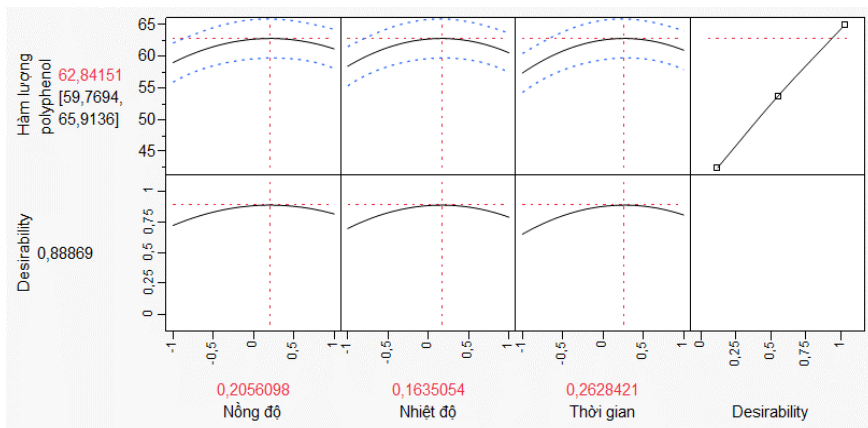
Bảng 6 cũng cho thấy ảnh hưởng của nồng độ dung môi (X_1), nhiệt độ trích ly (X_2) và thời gian trích ly (X_3) đến hàm lượng polyphenol thu được, các yếu tố ảnh hưởng theo phương trình đa thức bậc 2. Sau khi phân tích ANOVA bằng phần mềm JMP đã đưa ra phương trình sau:

$$Y = 62,24 + 2,11X_2 + 2,24X_3 - 2,76X_2X_3 - 2,61X_1^2 - 3,23X_2^2 - 3,41X_3^2$$

Tiến hành phân tích ANOVA thu được các kết quả sau: hàm lượng polyphenol đạt cực đại là 62,84 mg GAE/g_{CK} khi được trích ly tại các điều kiện tối ưu: nồng độ dung môi 82,05%, nhiệt độ trích ly 61,64 °C và thời gian trích ly 97,88 phút. Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát lên hàm lượng polyphenol và mô hình dự đoán điều kiện tối ưu được mô phỏng tại Hình 5 và Hình 6.



Hình 5. Mô hình bề mặt đáp ứng (a, b, c) thể hiện ảnh hưởng của các yếu tố (nồng độ dung môi X_1 ; nhiệt độ trích ly, X_2 ; thời gian trích ly, X_3) đến hàm lượng polyphenol.



Hình 6. Mô hình dự đoán hàm lượng polyphenol

Nguyên nhân là do khi nhiệt độ trích ly tăng làm tăng động học của các chất, làm các chất chuyển động với tốc độ nhanh hơn hòa tan dung môi. Thời gian trích ly càng dài thì khả năng trích ly polyphenol càng triệt để, kéo theo tăng hàm lượng polyphenol được trích ly. Tuy nhiên, khi nhiệt độ và thời gian trích quá dài sẽ dẫn đến việc hao hụt dung môi, nồng độ chất tan đạt trạng thái cân bằng nên hàm lượng polyphenol không tăng mà có xu hướng giảm do polyphenol dễ bị phân hủy dưới điều kiện nhiệt độ cao trong thời gian dài.

Sau khi nhận được điều kiện trích ly tối ưu, tiến hành lặp lại thí nghiệm thực nghiệm 3 lần ở điều kiện tối ưu thu được, so sánh kết quả thực tế và kết quả dự đoán từ mô hình tối ưu. Kết quả kiểm tra thực nghiệm thu được hàm lượng polyphenol là $61,16 \pm 0,25$ mgGAE/g_{CK},

chênh lệch 2,75% (<5%) so với hàm lượng polyphenol được dự đoán từ phương trình hồi quy (lượng polyphenol 62,84 mgGAE/g_{CK}). Điều này cho thấy hàm lượng polyphenol thực nghiệm không có sự khác biệt có ý nghĩa so với hàm lượng được dự đoán bằng mô hình hồi quy bậc 2 thu nhận được. Như vậy, phương trình bậc 2 được sử dụng phù hợp với thực tế và có giá trị thực tiễn. So với hàm lượng polyphenol trong dịch trích ly từ lõi của thân giả chỉ đạt $1245 \pm 92,34$ mgGAE/100 g_{CK}, hàm lượng polyphenol thu nhận từ củ chuối trong nghiên cứu này cao hơn rõ rệt và gần bằng lượng polyphenol trích ly từ thân giả của cây chuối ($6532 \pm 272,22$ mgGAE/100 g_{CK}) [23]. So sánh với hàm lượng polyphenol từ các loài thực vật khác như đậu nành, lá đắng... nhận thấy hàm lượng polyphenol thu nhận từ củ chuối có hàm lượng cao hơn [24, 25]. Như vậy, củ chuối là một đối tượng tiềm năng để nghiên cứu khai thác polyphenol.

4. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu này cho thấy, các yếu tố điều kiện trích ly ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng chiết xuất polyphenol từ củ của cây chuối hột. Trong dịch chiết củ chuối có chứa hàm lượng cao các hợp chất polyphenol, saponin, flavonoid và carotenoid. Các điều kiện thích hợp nhất để chiết tách polyphenol trong củ chuối hột như sau: Ethanol 80%, tỷ lệ NL/DM là 1/30 (w/v), nhiệt độ 60 °C trong thời gian 90 phút. Kết quả hàm lượng polyphenol đạt cực đại là 62,84 mgGAE/g_{CK} khi được trích ly tại các điều kiện tối ưu: nồng độ dung môi 82,05%, nhiệt độ trích ly 61,64 °C và thời gian trích ly 97,88 phút. Kết quả nghiên cứu cho thấy củ chuối là một nguồn tiềm năng để thu nhận polyphenol. Đây là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về phân lập và đánh giá các hoạt tính của chiết xuất thu được để hướng đến ứng dụng vào thực tiễn.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ và cấp kinh phí bởi Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh (nay là Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh), theo hợp đồng số 227/HĐ-DCT, ngày 15 tháng 11 năm 2022.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kalita H., Boruah D. C., Deori M., Hazarika A., Sarma R., Kumari S., Kandimalla R., Kotoky J., Devi R. - Antidiabetic and antilipidemic effect of *Musa balbisiana* root extract: A potent agent for glucose homeostasis in streptozotocin-induced diabetic rat. *Frontiers in pharmacology* **7** (2016) 102. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00102>
2. Lewis D. A., Fields W. N., Shaw G. P. - A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum* L. var. *paradisiaca*) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. *Journal of Ethnopharmacology* **65** (3) (1999) 283-8. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(99\)00005-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(99)00005-7)
3. Basumatary S., Nath N. - Assessment of chemical compositions and *in vitro* antioxidant properties of *Musa balbisiana* Colla inflorescence. *International Journal of Pharmaceutical Research* **10** (1) (2018) 80-85.
4. Kibria A. A., Kamrunnessa, Rahman M. M., Kar A. - Extraction and Evaluation of Phytochemicals from Banana Peels (*Musa sapientum*) and Banana Plants (*Musa paradisiaca*). *Malaysian Journal of Halal Research* **2** (1) (2019) 22-26. <https://doi.org/10.2478/mjhr-2019-0005>
5. Hà Thị Bích Ngọc - Điều tra, nghiên cứu một số thực vật Việt Nam có tác dụng hỗ trợ điều hòa lượng đường trong máu để ứng dụng cho bệnh nhân đái tháo đường type 2. Luận án Tiến sĩ, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên (2012) 62423015.
6. Alvarez R., Araya H., Navarro-Lisboa R., Lopez de Dicastillo C. - Evaluation of Polyphenol content and antioxidant capacity of fruits and vegetables using a modified

- enzymatic extraction. *Food Technol Biotechnol* **54** (4) (2016) 462-467. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4497>
7. Mattila P., Hellström J., Törrönen R. - Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **54** (19) (2006) 7193-7199.
 8. Balasundram N., Sundram K., Samman S. - Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* **99** (1) (2006) 191-203.
 9. Kandasamy S., Aradhya S.M. - Polyphenolic profile and antioxidant properties of rhizome of commercial banana cultivars grown in India. *Food Bioscience* **8** (2014) 22-32.
 10. Naparło K., Soszynski M., Bartosz G., Sadowska-Bartosz I. - Comparison of antioxidants: The limited correlation between various assays of antioxidant activity. *Molecules* **25** (14) (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25143244>
 11. Lam C. K., Zhang Z., Yu H., Tsang S. Y., Huang Y., Chen Z. Y. - Apple polyphenols inhibit plasma CETP activity and reduce the ratio of non-HDL to HDL cholesterol. *Molecular Nutrition & Food Research* **52** (8) (2008) 950-958. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700319>
 12. Dai J., Mumper R. J. - Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* **15** (10) (2010) 7313-52. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
 13. Shi J., Nawaz H., Pohorly J., Mittal G., Kakuda Y., Jiang Y. - Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods engineering and technology. *Food Reviews International* **21** (1) (2005) 139-166. <https://doi.org/10.1081/fri-200040606>
 14. Nguyễn Thu Quỳnh, Đàm Khải Hoàn, Bùi Thị Thanh Châm, Ngô Thị Loan, Nguyễn Duy Thu, Tô Hoài Anh, Nguyễn Thị Mai Anh - Định lượng saponin và polysaccharid toàn phần trong dược liệu Đẳng Sâm thu hái tại Sùng Trái - Hà Giang. *Tạp chí Y học Việt Nam* **513** (1) (2022). <https://doi.org/10.51298/vmj.v513i1.2357>
 15. Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M., Chern J. C. - Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* **10** (3) (2020). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
 16. Feduraev P., Chupakhina G., Maslennikov P., Tacenko N. và Skrypnik L. - Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants (Basel)* **8** (7) (2019). <https://doi.org/10.3390/antiox8070237>
 17. Kotikova Z., Sulc M., Lachman J., Pivec V., Orsak M., Hamouz K. - Carotenoid profile and retention in yellow-, purple- and red-fleshed potatoes after thermal processing. *Food Chemistry* **197** (Pt A) (2016) 992-1001. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.072>
 18. Huaman-Castilla N. L., Martinez-Cifuentes M., Camilo C., Pedreschi F., Mariotti-Celis M., Perez-Correa J. R. - The impact of temperature and ethanol concentration on the global recovery of specific polyphenols in an integrated HPLC/RP process on *Carmenere pomace* extracts. *Molecules* **24** (17) (2019). <https://doi.org/10.3390/molecules24173145>
 19. Elferjane M. R., Jovanovic A. A., Milutinovic V., Cutovic N., Jovanovic Krivokuca M., Marinkovic A. - From aloe vera leaf waste to the extracts with biological potential: optimization of the extractions, physicochemical characterization, and biological activities. *Plants (Basel)* **12** (14) (2023). <https://doi.org/10.3390/plants12142744>
 20. Jovanović A., Mosurović M., Bugarski B., Batinić P., Čutović N., Gordanić S., Marković T. - *Melissa officinalis* extracts obtained using maceration, ultrasound and microwave-assisted

- extractions: Chemical composition, antioxidant capacity, and physical characteristics. *Natural Medicinal Materials* **42** (2022) 51-59. <https://doi.org/10.5937/leksir2242051J>
21. Gironi F., Piemonte V. - Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. *Chemical Engineering Research and Design* **89** (7) (2011) 857-862. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2010.11.003>
 22. Joglekar A. M., Alfred T. M. - Product excellence through design of experiments. *Cereal Foods World* **32** (1987) 857-868.
 23. Aziz N.A.A., Ho L.-H., Azahari B., Bhat R., Cheng L.-H., Ibrahim M. N. M. - Chemical and functional properties of the native banana (*Musa acuminata*×*balbisiana* Colla cv. Awak) pseudo-stem and pseudo-stem tender core flours. *Food Chemistry* **128** (3) (2011) 748-753. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.100>
 24. Dương Thị Phương Liên, Hà Thanh Toàn, Phan Thị Bích Trâm - Ảnh hưởng quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa từ đậu nành. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* **1** (2014) 8-15.
 25. La Thị Hiền, Trần Thị Minh Nhung, Nguyễn Thùy Trang, Đỗ Mai Nguyên Phương - Ảnh hưởng của quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa từ cây lá đắng (*Vernonia amygdalina*). *Tạp chí Khoa học Đại học Văn Hiến* **5** (4) (2017) 93-99. <https://doi.org/10.58810/vhujs.5.4.2017.5431>

ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND POLYPHENOL EXTRACTION FROM *Musa balbisiana* CORM

Nguyen Quang Liem, Ho Le Bao Ngoc, Ha Thi Minh Thu,

Nguyen Pham Khanh Linh, Hoang Thi Ngoc Nhon*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: nhonhtn@huit.edu.vn

The extraction and characterization of the components of *Musa balbisiana* corm were carried out to identify biologically active compounds, such as saponins, flavonoids, tannins, and carotenoids... Among these compounds, polyphenols were found to be the most prevalent in banana corm extracts, and they have been shown to possess a wide range of biological activities, including antioxidant, antibacterial, anti-mold, and hypoglycemic properties, etc. These findings suggest that polyphenols derived from banana corm have great potential for use in the fields of medicine and pharmaceuticals. To optimize the extraction of polyphenols from banana corm, various factors need to be investigated, including the type of solvent (ethyl acetate, ethanol, and water), solvent concentration (60; 70; 80; 90; 99.5%), solid-to-liquid ratio (1/10; 1/20; 1/30; 1/40; 1/50, w/v), temperature (40; 50; 60; 70; 80 °C), and time (30; 60; 90; 120; 150 min). Results from the research indicate that ethanol is the most suitable solvent for extracting polyphenols from banana corm. The highest polyphenol content was obtained under optimal conditions, which included 82.05% ethanol concentration, a material-to-solvent ratio of 1/30 w/v, and an extraction temperature of 61.64 °C for 97.88 min, yielding 62.84 mgGAE/g_{CK}.

Keywords: Corm, ethanol, extraction, *Musa balbisiana*, polyphenol.