

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN TRÍCH LY ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID, ANTHOCYANIN VÀ THIOSULFINATE TRONG VỎ TỎI (*ALLIUM SATIVUM* L.)

Nguyễn Ái Thạch^{1,2*}, Nguyễn Thị Ngân²

¹Đại học Cần Thơ

²Đại học Tiền Giang

*Tác giả liên lạc chính, Email: nguyenaitach2001@gmail.com

Tóm tắt

Tỏi đã được sử dụng làm thực phẩm chức năng và dược phẩm trong y học cổ truyền qua nhiều thế kỷ. Tuy nhiên, vỏ tỏi được coi là chất thải nông nghiệp. Các nghiên cứu gần đây đã phát hiện ra rằng các chất được trích ly từ vỏ tỏi có chứa các hợp chất sinh học có hoạt tính chống oxy hóa (có thể được áp dụng trong công nghiệp thực phẩm và dược phẩm). Trong nghiên cứu này, các thông số khảo sát trong quá trình trích ly là nhiệt độ thay đổi trong khoảng 40 đến 80°C trong thời gian từ 30 đến 120 phút. Tất cả các dịch trích đều được xác định hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học (polyphenol tổng số, flavonoid tổng số, anthocyanin và thiosulfinate). Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học thu được cao nhất ở nhiệt độ 60-70°C trong khoảng thời gian 60-90 phút. Vỏ tỏi là nguồn cung cấp chất chống oxy hóa tự nhiên đầy hứa hẹn và có thể được ứng dụng trong dược phẩm và thực phẩm.

Từ khóa: Trích ly, nhiệt độ, thời gian, hợp chất có hoạt tính sinh học, vỏ tỏi

1. TỔNG QUAN

Từ lâu, tỏi đã được sử dụng như là một loại dược phẩm để điều trị nhiều bệnh khác nhau cho con người. Do sự hiện diện của một vài hợp chất có hoạt tính sinh học đem lại nhiều hiệu quả trong chữa trị đã được chứng minh [1]. Hầu hết các nghiên cứu đều có liên quan đến allicin và các dẫn xuất của nó. Allicin là thiosulfinate chủ yếu trong tỏi tươi nghiền. Allicin đảm nhiệm về đặc tính mùi vị đặc trưng của tỏi [2]. Allicin có tính không ổn định cao tại pH gần giá trị trung tính, ở nhiệt độ cao hoặc có sự hiện diện của dầu và thoái hóa nhanh chóng trong suốt quá trình chế biến hoặc bảo quản, làm hạn chế sinh khả dụng của allicin [3]. Bên cạnh đó, anthocyanin là hợp chất thuộc họ flavonoid, là sắc tố tan trong nước phổ biến ở thực vật, thường biểu hiện các màu tím, đỏ tía hoặc xanh trong các loại rau củ, trái cây, hoa lá và rễ của các loài thực vật. Các hợp chất này có khả năng chống oxy hóa, ngăn ngừa ung thư và chống lão hóa cho người sử dụng. Tuy nhiên, vỏ tỏi,

một sản phẩm phụ từ công nghiệp chế biến thực phẩm, chiếm 25% trong củ tỏi và được coi như chất thải nông nghiệp [4]. Nhìn chung, chất thải nông nghiệp là nguyên liệu lignocellulose. Các nghiên cứu gần đây đã phát hiện ra rằng chất chiết xuất từ vỏ tỏi có chứa các hợp chất phenolic với hoạt động chống oxy hóa và kháng khuẩn cao [5].

Hiện nay, có rất nhiều kỹ thuật để thu các chất chống oxy hóa từ thực vật như trích ly Soxhlet, ngâm, trích ly lỏng siêu tới hạn, trích ly bằng nước siêu tới hạn và trích ly bằng siêu âm. Tuy nhiên, hiệu suất trích ly và hoạt động chống oxy hóa không chỉ phụ thuộc vào phương pháp trích ly mà còn nhiệt độ và thời gian trích ly. Theo Spigno *et al.* [6], nhiệt độ và thời gian trích ly ảnh hưởng đến khả năng hòa tan, tốc độ truyền khối (hệ số khuếch tán) và sự ổn định của hợp chất phenolic.

Ngoài ra, chưa có dữ liệu báo cáo về việc trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ vỏ tỏi. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định nhiệt độ và thời

gian thích hợp cho việc trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học từ vỏ tỏi bằng cách sử dụng phương pháp trích ly dung môi.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên vật liệu

Tỏi tươi được thu hoạch và chọn lựa độ tuổi 130-135 ngày (sau khi gieo) tại phường Văn Hải, thành phố Phan Rang - Tháp Chàm, tỉnh Ninh Thuận. Vỏ tỏi khô được tách ra khỏi củ tỏi. Vỏ tỏi khô được thu nhận và sấy khô đến độ ẩm 3-5%. Tiếp theo, mẫu vỏ tỏi khô được nghiền mịn và cho qua rây sàng 1 mm. Sau đó, bột vỏ tỏi được gói trong bao bì plastic tráng nhôm và bảo quản ở 4°C trước khi trích ly.

2.1.1. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp công nghệ

Bột vỏ tỏi (5 g) được trộn với 250 mL nước cất và đem trích ly ở nhiệt độ 40-80°C trong khoảng thời gian 30-120 phút. Sau đó, hỗn hợp được lọc qua giấy lọc Whatman® 41. Tất cả dịch trích ly đều được giữ ở 4°C trước khi phân tích.

Phương pháp phân tích

Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) (mg acid gallic tương đương (GAE)/g chất khô): hàm lượng polyphenol tổng số được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu [7]. Phenol phản ứng với acid phosphomolybdic trong thuốc thử Folin-Ciocalteu, xuất hiện phức chất có màu xanh trong môi trường kiềm. Đo độ hấp thụ của mẫu ở 765 nm bằng máy đo quang phổ. Căn cứ vào cường độ màu đo được trên máy quang phổ và dựa vào đường chuẩn acid gallic để xác định hàm lượng polyphenol tổng số có trong mẫu. Hàm lượng polyphenol tổng của mẫu được thể hiện qua mg đương lượng acid gallic trên mỗi gram chất khô (mg GAE/g).

Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC): hàm lượng tổng flavonoid được xác định thông qua phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ trong môi trường kiềm - trắc quang [8]. Độ hấp thụ của dung dịch phản ứng được đo ở bước sóng 415 nm. Dựa vào đường chuẩn quercetin để xác định hàm lượng flavonoid tổng có trong mẫu. Các kết quả được thể hiện qua mg đương lượng quercetin (QE) trên mỗi g chất khô mẫu phân tích (mg QE/g).

Hàm lượng thiosulfinate tổng số ($\mu\text{mol/g}$) (TSF): đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm của 2-nitro-5-thiobenzoate được tạo ra bằng cách kết hợp các phương pháp của Kinalski and Noreña [9].

Hàm lượng anthocyanin (mg/g) (ATCN): phân tích theo phương pháp pH vi sai [10] dựa trên sự thay đổi màu theo cấu trúc của anthocyanin giữa pH= 1,0 và pH= 4,5. Tại pH= 1, các anthocyanin tồn

tại ở dạng oxonium hoặc flavium có độ hấp thụ cực đại, tại pH= 4,5 thì chúng lại ở dạng carbinol không màu. Phương pháp pH vi sai cho phép xác định hàm lượng anthocyanin tổng số chính xác và nhanh chóng, thậm chí khi có sự hiện diện của các hợp chất can thiệp khác.

2.1.2. Phân tích thống kê số liệu

Các kết quả thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI. Mỗi khảo nghiệm được thực hiện ba lần. Phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để xác định sự khác biệt ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các trung bình nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu thực nghiệm (Bảng 1, 2, 3 và 4), các phương trình hồi quy được xây dựng dựa trên sự ảnh hưởng của nhiệt độ (X: 40-80°C) và thời gian (Y: 30-120 phút) trích ly đến hàm lượng ATCN, TFC, TPC và TSF (lần lượt các phương trình 1, 2, 3 và 4) với hệ số xác định R^2 khá cao ($R^2 > 0,7$). Các mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến hàm lượng ATCN, TFC, TPC và TSF có thể giúp dự đoán các kết quả trong quá trình trích ly được thể hiện lần lượt ở Hình 1, 2, 3 và 4.

$$\text{ATCN} = -0,0151 + 0,0005 X + 0,00013 Y - 0,3 \cdot 10^{-5} X^2 - 5,6667 \cdot 10^{-7} Y^2 - 0,1 \cdot 10^{-5} XY$$

$$(1) R^2 = 0,91$$

$$\text{TFC} = -0,05128 + 0,00159 X + 0,00075 Y - 0,9 \cdot 10^{-4} X^2 - 0,3 \cdot 10^{-5} Y^2 - 0,5 \cdot 10^{-5} XY$$

$$(2) R^2 = 0,72$$

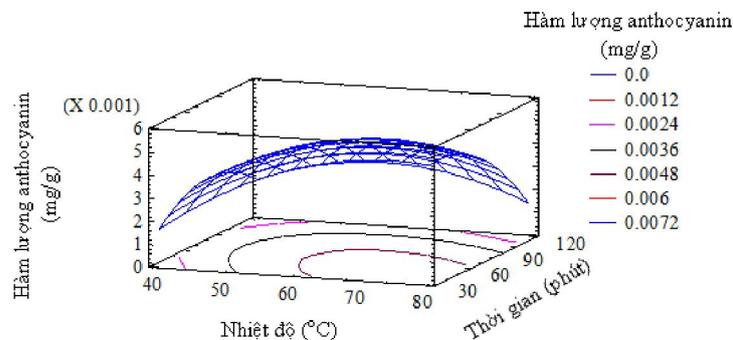
$$\text{TPC} = -25,9 + 0,6888 X + 0,3353 Y - 0,0049 X^2 - 0,0017 Y^2 - 0,00113 XY$$

$$(3) R^2 = 0,86$$

$$\text{TSF} = -13,8 + 0,386 X + 0,16 Y - 0,00234 X^2 - 0,0007 Y^2 - 0,0002 XY$$

$$(4) R^2 = 0,92$$

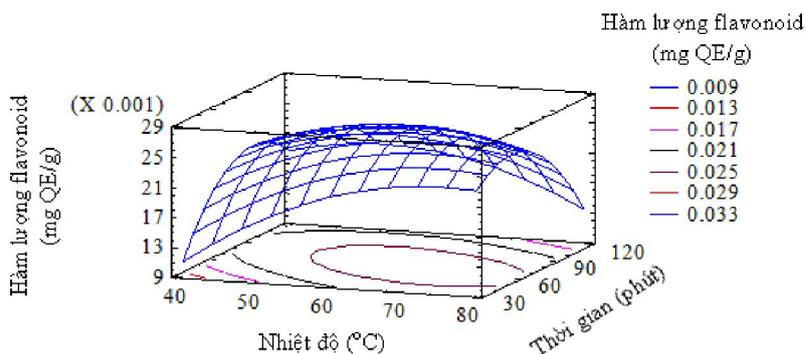
Anthocyanin là một hợp chất tan tốt trong nước. Kết quả phân tích ở Hình 1 cho thấy nhiệt độ và thời gian trích ly đều có ảnh hưởng đáng kể ($p < 0,05$) đến hàm lượng anthocyanin trong dịch trích vỏ tỏi. Vỏ tỏi được trích ly ở nhiệt độ 80°C trong 120 phút cho thấy hàm anthocyanin là thấp nhất (0,0010 mg/g). Khi gia tăng nhiệt độ trích ly, hàm lượng anthocyanin thu được cũng tăng. Tuy nhiên, anthocyanin sẽ bị phân hủy nếu thời gian trích ly kéo dài. Nhiệt độ và thời gian thích hợp để trích anthocyanin từ vỏ tỏi là 70°C trong 60 phút.



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến hàm lượng ATCN trong vỏ tỏi

Bảng 1. Sự thay đổi hàm lượng ATCN trong vỏ tỏi ở các điều kiện trích ly khác nhau

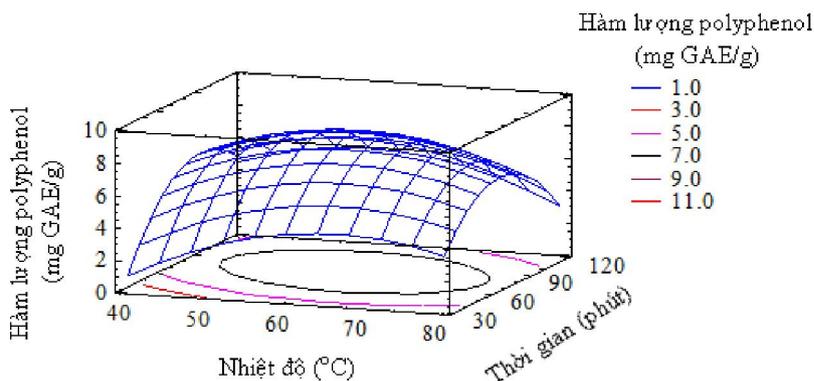
Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)			
	30	60	90	120
40	0,0019±0,0007	0,0024±0,0003	0,0027±0,0001	0,0018±0,0002
50	0,0035±0,0003	0,0041±0,0001	0,0037±0,0003	0,0025±0,0002
60	0,0045±0,0004	0,0047±0,0001	0,0040±0,0003	0,0033±0,0001
70	0,0053±0,0002	0,0055±0,0003	0,0047±0,0001	0,0025±0,0001
80	0,0047±0,0002	0,0057±0,0003	0,0035±0,0004	0,0010±0,0002



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến TFC trong vỏ tỏi

Bảng 2. Sự thay đổi TFC trong vỏ tỏi ở các điều kiện trích ly khác nhau

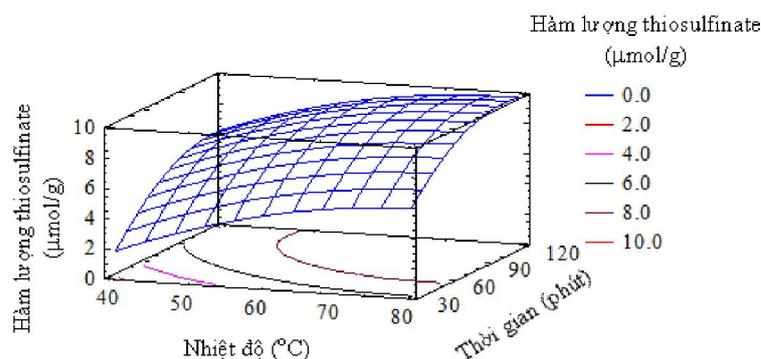
Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)			
	30	60	90	120
40	0,015±0,001	0,018±0,001	0,022±0,001	0,018±0,001
50	0,018±0,002	0,020±0,001	0,027±0,002	0,020±0,001
60	0,020±0,001	0,024±0,001	0,028±0,002	0,025±0,001
70	0,021±0,002	0,026±0,001	0,025±0,003	0,017±0,002
80	0,023±0,001	0,030±0,002	0,023±0,002	0,010±0,001



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến TPC trong vỏ tỏi

Bảng 3. Sự thay đổi TPC trong vỏ tỏi ở các điều kiện trích ly khác nhau

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)			
	30	60	90	120
40	1,50±0,33	5,90±0,41	6,33±0,39	3,79±0,22
50	2,76±0,12	6,35±0,45	7,71±0,61	6,39±0,20
60	3,13±0,26	7,29±0,31	8,93±0,25	6,57±0,35
70	4,26±0,31	8,70±0,70	7,94±0,41	4,44±0,77
80	4,49±0,72	5,31±0,57	5,90±0,55	3,15±0,53

**Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến hàm lượng TSP trong vỏ tỏi****Bảng 4. Sự thay đổi hàm lượng TSP trong vỏ tỏi ở các điều kiện trích ly khác nhau**

Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)			
	30	60	90	120
40	2,35±0,11	4,47±0,11	6,65±0,10	5,96±0,92
50	3,59±0,15	5,68±0,13	7,70±0,23	7,29±1,08
60	4,26±0,16	6,66±0,19	9,67±0,16	9,97±0,30
70	5,62±0,22	7,48±0,17	9,73±0,07	10,40±0,16
80	6,20±0,15	8,65±0,27	9,81±0,05	8,67±0,22

Tương tự, ba hợp chất còn lại (polyphenol, flavonoid và thiosulfinate) trong vỏ tỏi cũng đều bị ảnh hưởng đáng kể ($p < 0,05$) bởi nhiệt độ và thời gian trích ly. Trong một giới hạn, nhiệt độ cao làm tăng hiệu quả trích ly vỏ tỏi do tăng cường độ khuếch tán và độ hòa tan của chất cần trích ly trong dung môi. Vượt quá giới hạn này, nhiệt độ trích ly cao sẽ làm giảm hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và thiosulfinate. Thời gian ảnh hưởng đến khả năng trích ly các hoạt chất. Thời gian trích ly ngắn, các hợp chất sinh học không được trích ly hoàn toàn. Ngược lại, thời gian quá dài, một số hợp chất sinh học sẽ bị oxy hóa, chất lượng và số lượng các hoạt chất sẽ giảm bởi vì hầu hết các hoạt chất

sinh học nhạy cảm với nhiệt độ cao, giữ chúng trong thời gian dài sự phân hủy sẽ diễn ra.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng hai yếu tố nhiệt độ và thời gian trích ly đều ảnh hưởng đến quá trình trích ly các hợp chất có lợi cho sức khỏe từ vỏ tỏi. Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học thu được cao ở nhiệt độ 60-70°C trong khoảng thời gian 60-90 phút. Điều này cho thấy vỏ tỏi có thể là một nguồn tiềm năng các hợp chất có hoạt tính sinh học giúp hỗ trợ tăng cường sức khỏe và điều trị bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bautista, D.M., Movahed, P., Hinman, A., Axelsson, H.E., Sterner, O., Hogestatt, E.D., Julius, D., Jordt, S.E., and Zygmunt, P.M., (2005). "Pungent products from garlic activate the sensory ion channel TRPA1". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (34), 12248–12252.
- [2] Salazar, H., Llorente, I., Jara-Oseguera, A., Garcia-Villegas, R., Munari, M., Gordon, S.E., Islas, L.D., and Rosenbaum, T., (2008). A single N-terminal cysteine in TRPV1 determines activation by pungent compounds from onion and garlic. *Nature Neuroscience* 11 (3) 255–261.

- [3] Kim, J.H., Nam, S.H., Rico, C.W., and Kang, M.Y., (2012). “A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts”. *International Journal of Food Science and Technology*, 47 (6), 1176–1182.
- [4] Kallel, F., Bettaieb, F., Khiari, R., Garcia, A., Bras, J., and Chaabouni, S.E., (2016). “Isolation and structural characterization of cellulose nanocrystals extracted from garlic straw residues”. *Ind. Crops Prod.*, 87, 287–296.
- [5] Kallel, F., Driss, D., Chaari, F., Belghith, L., and Bouaziz, F., (2014). “Garlic (*Allium ativum* L.) husk wasted as a potential source of phenolic compounds: influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant activity”. *Ind. Crops Prod.*, 62, 34–41.
- [6] Spigno, G., Tramelli, L., and De Faveri, D.-M., (2007). “Effects of extraction time, temperature, and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics”. *J. Food Eng.*, 81, 200–208.
- [7] Wolfe, K., Wu, X., and Liu, L.H., (2003). “Antioxidant activity of apple peels”. *J Agric Food Chem.*, 51, 609-614.
- [8] Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y., and Tang, T., (2010). “Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV–vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies”. *Food Analytical Methods*, 3 (2), ,90-97.
- [9] Kinalska, T. and Norena, C.P.Z., (2014). “Effect of blanching treatments on antioxidant activity and thiosulfinate degradation of garlic (*Allium sativum* L.)”. *Food and Bio. Technology*, 7 (7), 2152-2157.
- [10] AOAC International, 2003. “AOAC Official Methods Program Manual”, www.aoac.org/vmeth/omamannual/omamannual.htm

THE EFFECTS OF EXTRACTION TEMPERATURE AND TIME ON POLYPHENOLS, FLAVONOIDS, ANTHOCYANINS AND THIOSULFINATES CONTENT FROM GARLIC (*ALLIUM SATIVUM* L.) HUSK

Nguyen Ai Thach^{1,2*}, Nguyen Thi Ngan²

¹*Can Tho University*

²*Tien Giang University*

*Corresponding author: nguyenaitlach2001@gmail.com

Abstract:

Garlic has been used as a functional food and medicine in traditional medicine for centuries. However, garlic husk are considered as agricultural waste. Recent studies have found that garlic husk extract contain bioactive compounds that have antioxidant activity (can be applied in the food and pharmaceutical industries). In this study, the parameters extraction were temperature varied from 40 to 80°C for 30 to 120 minutes. All garlic husk extracts were determined for the content of bioactive compounds (total polyphenols content, total flavonoids content, anthocyanins and thiosulfinates). Bioactive compounds were found to be highest at 60-70°C for 60-90 minutes. Garlic husk is a promising source of natural antioxidants to be used for different medicinal and food applications.

Keywords: Extraction, temperature, time, bioactive compound, garlic husk.