

MÔ HÌNH TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY POLYPHENOL, FLAVONOID VÀ S-ALLYL CYSTEINE TỪ TỎI ĐEN

¹Nguyễn Ái Thạch, ¹Đặng Thị Hồng Đào

¹Khoa Nông nghiệp và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang

Tóm tắt

Tỏi đen được chế biến từ tỏi tươi (*Allium sativum* L.) thông qua quá trình ủ trong một khoảng thời gian dài ở nhiệt độ và độ ẩm thích hợp. Tỏi đen có nhiều tác dụng có lợi đối với sự chuyển hóa trong cơ thể và bệnh tim mạch. Trong nghiên cứu này, các thông số khảo sát trong quá trình trích ly là nhiệt độ 40 đến 80°C và thời gian 30 đến 120 phút. Tất cả các dịch trích đều được xác định hàm lượng chất có hoạt tính sinh học (polyphenol tổng số, flavonoid tổng số và S-allyl cysteine). Kết quả thu được cho thấy điều kiện tối ưu quá trình trích ly polyphenol, flavonoid và SAC (giá trị lần lượt là 10,93 mg GAE/g d.w, 4,20 mg QE/g d.w và 97,3 mg/kg, tương ứng) từ tỏi đen là 60°C trong 90 phút.

Từ khóa: flavonoid, polyphenol, S-allyl cysteine, tối ưu, tỏi đen, trích ly.

1. Giới thiệu

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. Quy trình chế biến chung để thu được tỏi đen là ủ toàn bộ củ tỏi ở điều kiện nhiệt độ cao và độ ẩm được kiểm soát trong khoảng một tháng. Tỏi đen có cấu trúc hơi dẻo và trong quá trình hóa nâu, hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix) tăng cao và vị trở nên ngọt. pH của tỏi đen cũng giảm từ khoảng 6,0 trong tỏi tươi xuống còn dưới 3,8 trong tỏi đen. Điều này lý giải cho việc thời hạn sử dụng tỏi đen lâu hơn [1]. Một thay đổi quan trọng trong quá trình ủ là sự gia tăng hàm lượng polyphenol [2] và do đó khả năng chống oxy hóa cũng tăng [3]. Mặt khác, khả năng chống oxy hóa cũng là do sự biến đổi của một số thành phần không ổn định và có mùi của tỏi tươi trở thành các hợp chất ổn định và không mùi trong suốt quá trình ủ, chủ yếu là các hợp chất hữu cơ lưu huỳnh như S-allyl cystein (SAC) [4]. SAC là một hợp chất có hoạt tính sinh học tan trong nước được biết đến với khả năng chống oxy hóa rất cao [5] được hình thành trong quá trình thủy phân γ -glutamyl-S-allylcysteine do enzyme γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP). Hàm lượng SAC trong tỏi tươi khoảng 20-30 μ g/g và tăng khoảng 6 lần trong suốt quá trình ủ [6]. Tuy nhiên, hoạt động của γ -GTP bị ảnh hưởng bởi nhiệt [7] và do đó, nhiệt độ

cao có thể hạn chế sự hình thành SAC trong quá trình ủ. Mục tiêu của phương pháp trích ly nhằm thu được tối đa các hợp chất với chất lượng cao nhất [8]. Trong quá trình chiết xuất phải trích ly hoàn toàn các hợp chất có lợi mà không làm thay đổi cấu trúc hóa học của chúng [9]. Vì vậy, lựa chọn điều kiện trích ly tối ưu rất quan trọng đối với trích ly nguyên liệu có nguồn gốc từ thực vật. Ngoài ra, hiện nay có rất ít dữ liệu báo cáo về điều kiện trích ly thích hợp các hợp chất có hoạt tính sinh học trong tỏi đen. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu hóa điều kiện trích ly các chất sinh học trong tỏi đen.

2. Vật liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Tỏi tươi được thu hoạch và chọn lựa tại phường Văn Hải, thành phố Phan Rang - Tháp Chàm, tỉnh Ninh Thuận. Tỏi đen được chế biến thông qua phương pháp ủ củ tỏi tươi đã xử lý.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp trích ly

Tỏi đen được nghiền và trộn với dung dịch ethanol 50% theo các tỷ lệ nguyên liệu tỏi đen/dung môi là 1/10, để yên ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Tỏi đen được trích ly ở nhiệt độ 40, 50, 60, 70 và 80°C trong khoảng thời gian 30, 60, 90 và 120 phút

và đem lọc qua giấy lọc Whatman®. Tất cả dịch trích ly đều được giữ ở 1°C trước khi phân tích.

Các phương pháp phân tích

- **Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) (mg acid gallic tương đương (GAE)/g d.w):** hàm lượng polyphenol tổng số được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu [10]. Đo độ hấp thụ của mẫu ở 765 nm bằng máy đo quang phổ UV. 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 [11]. Độ hấp thụ của dung dịch phản ứng được đo ở bước sóng 415 nm. Các kết quả được thể hiện qua mg đương lượng quercetin (QE) trên mỗi g chất khô mẫu phân tích (mg QE/g d.w).

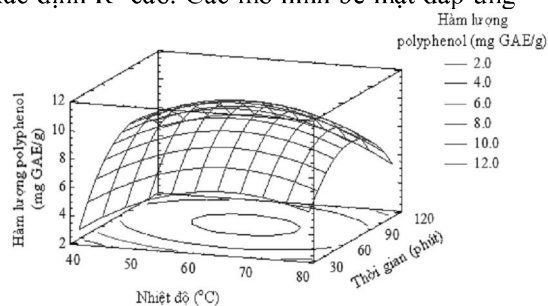
- **Phân tích hàm lượng SAC bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC):** cân 10 g tỏi xay nhuyễn cho vào bình định mức 100 mL và định mức đến vạch bằng nước cất khử ion, để yên 1 giờ ở nhiệt độ 60°C trong bể điều nhiệt. Sau đó, hỗn hợp được lọc qua màng có kích thước 0,45 μm và thu được dung dịch sử dụng phân tích. Đường chuẩn được xây dựng thông qua chất chuẩn S-allyl-L- cysteine ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich Co. LLC).

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, 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 TPC, TFC và hàm lượng SAC. Cụ thể qua các phương trình (1), (2) và (3) với hệ số xác định R^2 cao. Các mô hình bề mặt đáp ứng



a.

thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến TPC, TFC và hàm lượng SAC giúp dự đoán các kết quả trong quá trình trích ly được thể hiện ở Hình 1. Dựa vào các giá trị X, Y và ba phương trình đã xây dựng được thì điều kiện trích ly tối ưu các hợp chất sinh học cao nhất ở nhiệt độ 60°C trong khoảng 90 phút, cụ thể TPC là 10,93 mg GAE/g d.w, TFC là 4,20 mg QE/g d.w và hàm lượng SAC là 97,3 mg/kg.

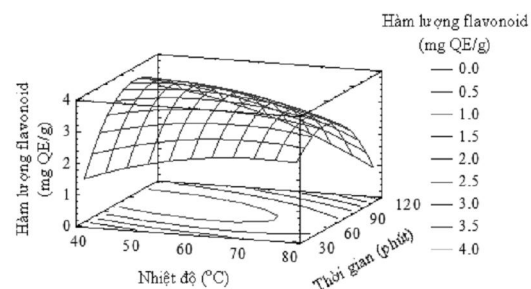
$$TPC \text{ (mg GAE/g)} = -23,949 + 0,7 X + 0,325 Y - 0,0051 X^2 - 0,0016 Y^2 - 0,00106 XY \quad (1) \quad (R^2 = 0,85)$$

$$TFC \text{ (mg QE/g)} = -6,3816 + 0,1615 X + 0,1505 Y - 0,001 X^2 - 0,0007 Y^2 - 0,0009 XY \quad (2) \quad (R^2 = 0,85)$$

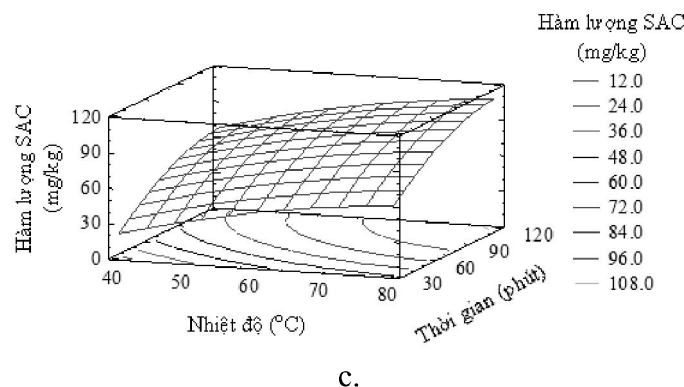
$$SAC = -99,1512 + 2,759 X + 1,268 Y - 0,015 X^2 - 0,0049 Y^2 + 0,0002 XY$$

$$(3) \quad (R^2 = 0,97)$$

Theo Spigno *et al.* [8], nhiệt độ 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. Trong một giới hạn, nhiệt độ cao làm tăng hiệu quả trích ly do tăng cường 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 và flavonoid tổng số [12]. Gia nhiệt làm tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất; giảm độ nhớt dung dịch, tăng khả năng truyền khối và thẩm thấu của dung môi vào trong tế bào [13]. Ngoài ra, Mohamad *et al.* [14] báo cáo rằng nhiệt độ cao có thể làm giảm các rào cản tế bào do sự suy yếu của thành và màng tế bào tạo điều kiện cho dung môi dễ dàng tiếp xúc với các hợp chất, làm tăng khả năng trích ly. 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 sẽ dẫn đến sự phân hủy sẽ diễn ra [14].



b.



Hình 1. Sự thay đổi TPC, TFC và hàm lượng SAC trong dịch trích tỏi đen ở các điều kiện trích ly khác nhau

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng các yếu tố nhiệt độ và thời gian trích ly đều ảnh hưởng đến quá

trình trích ly các chất có hoạt tính sinh học trong tỏi đen. Điều kiện trích ly tối ưu các hợp chất sinh học cao nhất ở nhiệt độ 60°C trong khoảng 90 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Toledano-Medina, M.A., Perez-Aparicio, J., Moreno-Rojas, R., and Merinas-Amo, (2016). Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. *Food Chemistry*, 199: 135–139.
- [2] Kim, I., Kim, J.-Y., Hwang, Y.-J., Hwang, K.-A., Om, A.-S., Kim, J.-H., and Cho, K.-J., (2011). The beneficial effects of aged black garlic extract on obesity and hyperlipidemia in rats fed a high-fat diet. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5: 3159–3168.
- [3] Nencini, C., Menchiari, A., Franchi, G.G., and Micheli, L., (2011). *In vitro* antioxidant activity of aged extracts of some Italian *Allium* species. *Plant Foods for Human Nutrition* (Dordrecht, Netherlands), 66(1): 11–16.
- [4] Lee, Y.-M., Gweon, O.-C., Seo, Y.-J., Im, J., Kang, M.-J., Kim, M.-J., and Kim, J.-I., (2009). Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, 3(2): 156–161.
- [5] Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., and Park, H.J., (2012). A comparative study of the different analytical methods for analysis of S-allyl cysteine in black garlic by HPLC. *LWT - Food Science and Technology*, 46(2): 532–535.
- [6] Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., and Park, H.J., (2014). Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1): 397–402.
- [7] Munday, J.S., James, K.A., Fray, L.M., Kirkwood, S.W., and Thompson, K.G., (1999). Daily supplementation with aged garlic extract, but not raw garlic, protects low density lipoprotein against in vitro oxidation. *Atherosclerosis*, 143(2): 399–404.
- [8] Spigno, G., Tramelli, L., 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.
- [9] Zuo, Y., Chen, H., Deng, Y., (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with photodiode array detector. *Talanta*, 57: 307–316.
- [10] Wolfe, K., Wu, X. and Liu, L.H., (2003). Antioxidant activity of apple peels. *J Agric Food Chem.*, 51: 609–614.
- [11] 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.

- [12] Ju, Z.Y. and Howard, L.R., (2003). Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *J Agric Food Chem.*, 51(18): 5207–5213.
- [13] Al-Farsi, M.A. and Lee, C.Y., (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108: 977-985.
- [14] Mohamad, M., Ali, M.W. and Ahmad, A., (2010). Modelling for extraction of major phytochemical components from *Eurycoma longifolia*. *Journal of Applied Sciences*, 10: 2572-2577.

OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS OF POLYPHENOL, FLAVONOID AND S-ALLYL CYSTEINE FROM BLACK GARLIC

Nguyen Ai Thach*

Faculty of Agriculture and Food Technology, Tien Giang University

*Corresponding author: email: nguyenaithach2001@gmail.com; Cellphone: 0917813575

Abstract

*Black garlic is obtained from fresh garlic (*Allium sativum* L.) that has been aged for a long time at a high temperature under high humidity. Black garlic exerts metabolic and cardiovascular beneficial effects. In this study, the process was investigated in the temperatures ranging of 40 to 80°C during 30 to 120 minutes, as well as determination of bioactive compounds content (total polyphenols, total flavonoids and S-allyl cysteine content) of all obtained extracts. The results obtained indicated that the optimal condition for extracting polyphenols, flavonoids and SAC (the values were 10.93 mg GAE/g d.w, 4.20 mg QE/g d.w and 97.3 mg/kg, respectively) from black garlic was 60°C for 90 minutes.*

Keywords: black garlic, extraction, flavonoid, optimization, polyphenol, S-allyl cysteine.