

# NGHIÊN CỨU TRÍCH LI POLYPHENOL TỪ CHÈ XANH VỤN

## PHẦN 1. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH TRÍCH LI POLYPHENOL

VŨ HỒNG SƠN, HÀ DUYÊN TƯ

### 1. GIỚI THIỆU

Các hợp chất polyphenol phân bố rộng rãi trong thực vật và được đặc biệt chú ý nghiên cứu trong vài thập kỷ gần đây. Polyphenol của chè xanh đóng vai trò là một chất chống oxy hóa tự nhiên và ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Nó có tác dụng ngăn ngừa bệnh ung thư [10], bệnh về đường tim mạch [6], bệnh tiểu đường, bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson [7], làm giảm sự nhiễm độc do kim loại, do phóng xạ...

Polyphenol chè xanh được trích li bằng nhiều kỹ thuật khác nhau: trích li truyền thống bằng dung môi nước, trích li bằng bộ Soxhlet, trích li có hỗ trợ vi sóng, trích li dùng siêu âm, trích li bằng dòng chất lỏng siêu tới hạn. Quá trình trích li polyphenol chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố: Beata Druzynska cùng cộng sự [3] đã cho thấy hiệu suất trích li và hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol chè xanh phụ thuộc nhiều vào dung môi và thời gian trích li; Yuko Yoshida [11] và Phạm Thành Quân [8] trong nghiên cứu của mình đều cho thấy hàm lượng và hoạt tính sinh học của polyphenol thu được từ dịch trích li chè xanh phụ thuộc đáng kể vào pH, tỉ lệ dung môi / nguyên liệu, cũng như loại dung môi, thời gian trích li và nhiệt độ trích li. Ngoài ra với kỹ thuật trích li có hỗ trợ vi sóng đều cho hiệu suất trích li cao hơn phương pháp trích li truyền thống [5, 8], tuy nhiên phương pháp này chỉ phù hợp với quy mô nhỏ. Mặc dù nhiều kỹ thuật trích li mới được phát triển, nhưng phương pháp trích li cổ điển bằng nước vẫn được ứng dụng rộng rãi do ưu điểm nổi trội về hiệu quả kinh tế cao.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích li polyphenol bằng nước từ chè xanh vụn nhằm hoàn thiện công nghệ khai thác nguồn polyphenol từ chè xanh.

### 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là chè vụn được lấy từ cơ sở sản xuất chè xanh ở vùng Phú Hộ (Phụ Thọ) vào vụ Đông. Mẫu chè được bảo quản trong 2 lớp túi polyetylen kín ở nơi khô ráo, thoáng mát, dùng làm nguyên liệu để nghiên cứu.

#### 2.2. Thiết bị, hóa chất

Dung môi và hóa chất sử dụng đạt độ tinh khiết phân tích do Trung Quốc và Đức (Merck) sản xuất. Các thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Phân tích chất lượng thực phẩm, Viện công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội.

## 2.3. Các phương pháp phân tích

### 2.3.1. Chuẩn bị dịch chiết chè

#### a. Mẫu dịch chè xác định polyphenol tổng số

Kết hợp phương pháp xác định tổng lượng chất tan theo Voronxop [1] và phương pháp phân tích polyphenol chuẩn [4], tiến hành chuẩn bị mẫu như sau: cân chính xác lượng chè vụn (khoảng 3 g) đã nghiền nhỏ, chuyển vào bình cầu 250 ml (có lắp sinh hàn), thêm 150 ml nước cất, chỉnh pH = 3,5 bằng HCl 1 N, trích li trong 1 giờ. Lọc dịch chè, cô quay chân không, định mức về 100 ml. Dịch chiết chè được bảo quản lạnh, trong lọ kín, dùng cho phân tích tổng lượng polyphenol.

#### b. Mẫu thí nghiệm

Cân chính xác (khoảng 3 g) chè vụn đã nghiền nhỏ, chuyển vào bình cầu 250 ml (có lắp sinh hàn) và tiến hành trích li trong bể điều nhiệt ở các điều kiện xác định về thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và pH. Lọc dịch chè, cô quay chân không, định mức về 100 ml. Dịch chiết chè được bảo quản lạnh, trong lọ kín.

### 2.3.2. Định lượng polyphenol tổng số

Định lượng polyphenol tổng số được tiến hành theo phương pháp Folin-Denis (AOAC 952.03-2000) [2].

### 2.3.3. Hoạt tính chống oxy hóa-khả năng quét gốc tự do DPPH

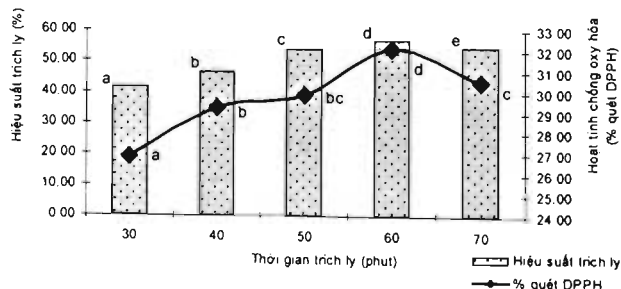
Hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol được xác định dựa trên khả năng quét gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) [9]. Các mẫu dịch chiết chè được chuẩn bị có hàm lượng polyphenol (tương đương axit gallic) 100 ppm.

## 2.4. Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp 4 lần. So sánh sự khác biệt về giá trị trung bình bằng thuật toán phân tích phương sai (ANOVA) theo mô hình 1 yếu tố. Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của thời gian trích li



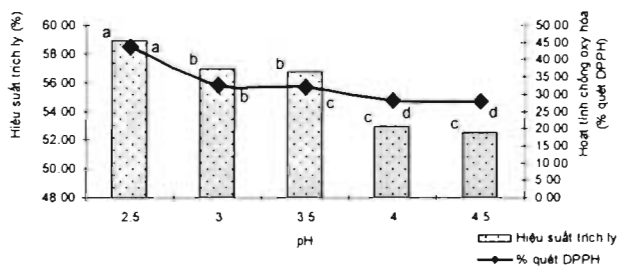
Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất trích li và hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol

Tiến hành trích li các mẫu chè từ 30 đến 70 phút ở pH 3,5, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 10/1 (v/m), nhiệt độ trích li 90°C. Hiệu suất trích li và hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol được thể hiện ở hình 1.

Qua hình 1, ta thấy khi thời gian trích li tăng, hiệu suất trích li tăng và lớn nhất đạt 56,75% tại 60 phút, sau đó bắt đầu giảm. Phân tích ANOVA 1 yếu tố chỉ ra thời gian trích li có ảnh hưởng rõ đến hiệu suất trích li ( $F = 3816,3$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ), hiệu suất trích li khác nhau ở từng thời gian trích li được biểu diễn bằng các chữ cái khác nhau trên cột. Quy luật tương tự cũng quan sát thấy khi khảo sát hoạt tính chống oxy hóa, tăng dần và lớn nhất đạt 32,11% tại 60 phút, sau đó giảm dần ( $F = 40,43$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Beata Druzynska [3]. Theo thời gian trích li, dịch chè dần đạt độ bão hòa, đồng thời trong dịch chè chứa nhiều các catechin có hoạt tính cao như EGCG (epigallocatechin gallat), ECG (epicatechin gallat), EGC (epigallocatechin). Khi kéo dài thời gian trích li các catechin bị oxy hóa và trùng ngưng làm giảm hàm lượng và hoạt tính. Do vậy thời gian trích li thích hợp từ 45 - 60 phút.

### 3.2. Ảnh hưởng của pH trích li

Các mẫu chè được trích li ở pH từ 2,5 đến 4,5, thời gian 60 phút, tỉ lệ dung môi / nguyên liệu 10/1 (v/m), nhiệt độ trích li 90°C. Các polyphenol là những chất chống oxy hóa mạnh, dễ bị oxy hóa ở pH cao. Do vậy ở pH thấp các hợp chất polyphenol được bảo vệ tốt hơn và cho hiệu suất trích li cao hơn. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 2.

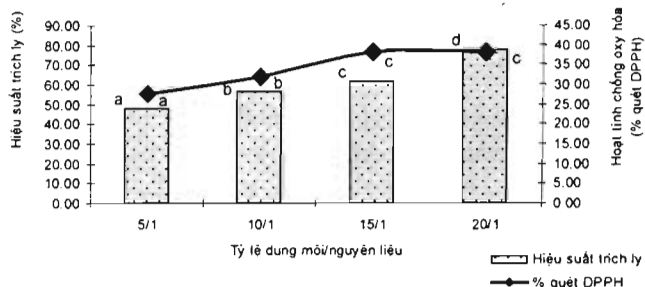


Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất trích li và hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol

Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất trích li là rõ rệt ( $F = 221,9$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ), khi  $pH > 3,5$  hiệu suất trích li bắt đầu giảm, đạt 58,9% ( $pH = 2,5$ ) và giảm xuống 52,49% ( $pH = 4,5$ ). Ta cũng nhận thấy điều tương tự ở hoạt tính chống oxy hóa, đạt 43,81% ( $pH = 2,5$ ) và giảm còn 27,77% ( $pH = 4,5$ ). Sự ảnh hưởng của pH trích li đến hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol là rất rõ ( $F = 2483,3$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Điều này cũng thấy trong nghiên cứu của Yuko Yoshida [11], ở pH cao lượng catechin chính như EC (epicatechin), EGC, ECG, EGCG sẽ giảm, lượng catechin còn lại như C (catechin), GC (gallocatechin), CG (catechin gallat) và GCG (gallocatechin gallat) sẽ tăng. Như vậy pH thích hợp cho trích li từ 2,5 - 3,5.

### 3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/nguyên liệu

Tuần tự trích li các mẫu chè với tỉ lệ dung môi/nguyên liệu từ 5/1 đến 20/1 (v/m), thời gian 60 phút, ở pH 3,5, nhiệt độ trích li 90°C. Trong quá trình trích li, hợp chất polyphenol từ chè sẽ chuyển vào pha nước do sự khuếch tán, do vậy hiệu suất trích li sẽ tăng khi tăng tỉ lệ dung môi/nguyên liệu. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 3.

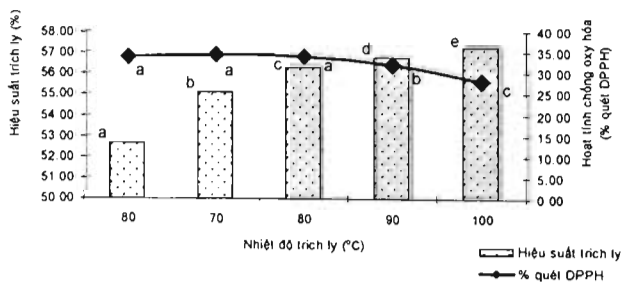


Hình 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/nguyên liệu đến hiệu suất trích li và hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol

Khi tỉ lệ dung môi/nguyên liệu tăng dễ thấy hiệu suất trích li tăng: tỉ lệ 5/1 cho hiệu suất 48,08%, tỉ lệ 20/1 cho hiệu suất cao 77,53%. Tỉ lệ dung môi/nguyên liệu có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất trích li ( $F = 14804,9$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol cũng tăng: từ 27,76% (tỉ lệ 5/1) lên 38,28% (tỉ lệ 15/1), giữa tỉ lệ 15/1 và 20/1 không thấy sự khác biệt về hoạt tính chống oxy hóa. Tuy nhiên sự khác nhau về hoạt tính chống oxy hóa ở các tỉ lệ dung môi/nguyên liệu cũng rất lớn ( $F = 782,9$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Ở tỉ lệ dung môi / nguyên liệu thấp lượng catechin tự do, EC, EGC lớn, nhưng khi tăng tỉ lệ dung môi / nguyên liệu thì lượng các chất gallat của catechin (ECG, EGCG) tăng mạnh làm tăng hoạt tính, theo nghiên cứu của Yuko Yoshida [11]. Khi tỉ lệ dung môi/nguyên liệu  $> 15/1$ , hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol không đổi, hiệu suất có tăng thêm, nhưng dịch chè bị loãng gây nhiều khó khăn cho việc tinh chế thu hồi chế phẩm polyphenol. Do vậy tỉ lệ dung môi/nguyên liệu thích hợp từ 10/1 - 15/1.

### 3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Các mẫu chè được trích li ở nhiệt độ từ 60°C đến 100°C, thời gian 60 phút, pH 3,5, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 10/1 (v/m). Trong quá trình trích li, tăng nhiệt độ sẽ giúp quá trình khuếch tán hợp chất polyphenol từ chè vào pha nước được nhanh và triệt để. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích li và hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol

Dễ nhận thấy khi nhiệt độ tăng, hiệu suất trích li tăng: ở 60°C cho hiệu suất 52,67%, 100°C cho hiệu suất 57,23%. Sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích li là rất rõ ràng ( $F = 775,1$ ,

$p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Trong quãng nhiệt độ từ  $60^{\circ}\text{C}$  -  $80^{\circ}\text{C}$ , hoạt tính chống oxy hóa của polyphenol hầu như không đổi, khi nhiệt độ lớn hơn  $90^{\circ}\text{C}$  hoạt tính bắt đầu giảm ( $F = 147,9$ ,  $p < 0,0001$ ,  $\alpha = 0,05$ ), điều đó được biểu diễn bằng các chữ cái trên đường cong trong hình 4. Do vậy nhiệt độ trích li thích hợp từ  $80^{\circ}\text{C}$  -  $90^{\circ}\text{C}$ .

#### 4. KẾT LUẬN

Quá trình trích li polyphenol từ chè xanh vụn bằng dung môi nước chịu ảnh hưởng mạnh của các yếu tố như: thời gian trích li, pH trích li, tỉ lệ nước/nguyên liệu và nhiệt độ trích li. Đã xác định được khoảng ảnh hưởng của các yếu tố chính tác động đến quá trình trích li polyphenol từ chè xanh vụn nhằm thu được chế phẩm polyphenol với hiệu suất và hoạt tính chống oxy hóa cao. Cụ thể tiến hành quá trình trích li trong khoảng: thời gian từ 45 đến 60 phút, pH từ 2,5 đến 3,5, tỉ lệ nước/nguyên liệu (v/m) từ 10/1 đến 15/1 và nhiệt độ trích li từ  $80^{\circ}\text{C}$  đến  $90^{\circ}\text{C}$ .

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Thy Thu, Đoàn Hùng Tiến, Đỗ Thị Gấm, Giang Trung Khoa - Các hợp chất hóa học có trong chè và một số phương pháp phân tích thông dụng trong sản xuất chè ở Việt Nam, NXB Nông Nghiệp, 2001.
2. AOAC - Official Method 952.03, 2000.
3. Beata Druzynska, Agnieszka Stepniewska, Rafal Wolosiak - The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts, *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment* **6** (1) (2007) 27-36.
4. Hara Yukihiko - Process for the production of a natural antioxidant obtained from tea leaves, US patent 4.673.530, 1987.
5. Jae-Moon Rho, Jae-Kun Chun - Automatic operating system for microwave assisted extraction of food, *Food Engineering Progress* **5** (2) (2001) 125-129.
6. Nakachi Kel, Kazue Imai and Kenji Suga - Epidemiological Evidence for Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease by Drinking Green Tea, Department of Epidemiology, Saitama Cancer, Center research institute: 818 Komuro, Ina, Saitama 362, Japan, 1997.
7. Pan T., Jankovic J., Le W. - Potential therapeutic properties of green tea polyphenol in parkinson's disease, *Drug aging* **20** (2003) 711-721.
8. Pham Thanh Quan, Tong Van Hang, Nguyen Hai Ha, Do Nguyen Tuyet Anh, Truong Ngoc Tuyen - Extraction of polyphenols from green tea using microwave assisted extraction method, In: Proceedings of the 9th conference on science and technology, Ho Chi Minh City University of Technology, October 2005, pp. 42-45.
9. Qin Yan Zhu, Robert M. Hackman, Jodi L. Esunsa, Roberta R. Holt, and Carl L. Keen - Antioxidative activities of Oolong tea, *J. Agric. Food Chem.* **50** (2002) 6929-6934.
10. Xu Y., Ho C.T., Amin S.G., Han C., Chung F.L. - Inhibition of tobacco-specific nitrosamine-induced lung tumorigenesis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as oxidants, *Cancer Res.* **52** (1992) 3875-3879.
11. Yuko Yoshida, Masaaki Kiso, Tetsuhisa Goto - Efficiency of the extraction of catechins from green tea, *Food Chemistry* **67** (1999) 429-433.

## SUMMARY

### STUDY ON POLYPHENOL EXTRACTION FROM DUST GREEN TEA PART 1. THE INFLUENCE FACTORS ON POLYPHENOL EXTRACTION

Traditionally, green tea extract is obtained by water or organic solvent extraction. In this paper, polyphenol extraction was carried out by using water extraction from dust green tea, harvested from Phu Ho, Phu Tho province. The aims of the study is to investigate the influence factors on the efficiency of the extraction of polyphenols (a functional group with many precious biological activities) from dust green tea. Tea extract was analysed for the content of total polyphenols by Folin-Denis method and the antioxidant activity of this extract was determined by DPPH free radical scavenger activity. This work was focused on researching of several main influence factors on the extraction of polyphenols from green tea including extraction time, pH, solvent/material ratio and extraction temperature. The range of these factors to get high yield of both polyphenols and antioxidant activity were 45 - 60 min; 2,5 - 3,5; 10/1 - 15/1 and 80°C - 90°C, respectively.

*Địa chỉ:*

Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội.

*Nhận bài ngày 22 tháng 3 năm 2008*