

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY DIỆP LỤC TỪ LÁ LỐT VÀ THỬ NGHIỆM TẠO SẢN PHẨM DẠNG BỘT

Nguyễn Lan Linh⁽¹⁾, Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài: 13/12/2024; Chấp nhận đăng: 06/02/2025

Liên hệ email: hungngoc@tdmu.edu.vn

Tóm tắt

Diệp lục được sử dụng như một loại thực phẩm bổ sung, có tác dụng làm sạch gốc tự do, giúp ngăn ngừa nhiều tổn hại về sức khỏe. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả trích ly diệp lục từ lá lốt đã được khảo sát như tỷ lệ nguyên liệu, nhiệt độ trích ly. Nồng độ ethanol và thời gian trích ly được tối ưu theo phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM). Từ đó, thử nghiệm tạo dẫn xuất bột diệp lục tan trong nước và đánh giá hàm lượng diệp lục của sản phẩm khi bảo quản ở các nhiệt độ khác nhau. Trích ly ở 40°C, tỷ lệ lá lốt/ dung môi 1/15 hiệu quả nhất cho việc thu nhận diệp lục. Kết quả tối ưu hóa cho thấy hàm lượng diệp lục cao nhất khi sử dụng ethanol 90%, trích ly trong 23,4 giờ, đạt 34,8mg/g lá lốt. So với nhiệt độ phòng, bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ lạnh giúp hàm lượng diệp lục được ổn định. Hàm lượng diệp lục trong sản phẩm giảm 17,5% sau 6 tháng bảo quản ở 5°C.

Từ khóa: *bột diệp lục, chlorophyll, lá lốt, phương pháp đáp ứng bề mặt*

Abstract

STUDY ON EXTRACTION OF CHLOROPHYLL FROM TO PRODUCE THE CHLOROPHYLL POWDER

*Chlorophyll was used as a dietary supplement that scavenging free radicals and helps prevent disadvantages for health. Some factors affecting the chlorophyll yield from lolot leaf (*Piper sarmentosum*) were studied, including the ratio of lolot leaf and ethanol and the extracting temperature. The response surface methodology (RSM) was used to maximize the simultaneous effect of ethanol concentration and extracting time. Then, a water-soluble chlorophyll powder was trial-produced and assessed for the chlorophyll content of product at the different temperatures of preservation. Immersion at 40°C, the ratio of lolot leaf and ethanol of 1 and 15 was most effective for the extraction of chlorophyll. By RSM, the highest yield of chlorophyll was recorded at the ethanol concentration of 90% for 23.4 hours, yielding 34.8mg/g lolot leaf. Comparison with room temperature, preservation of the product at the cold temperature helped the chlorophyll content be more stable. The chlorophyll content of product reduced 17.5% after 6 months of preservation at 5°C.*

1. Đặt vấn đề

Diệp lục (chlorophyll) và các dẫn xuất được cho là có các chức năng hỗ trợ sức khỏe quan trọng như ngăn ngừa ung thư và kháng viêm. Diệp lục cũng là nguồn vitamin A, E, K, C và β -carotene, các nguyên tố khoáng thiết yếu như magie, kali, sắt, canxi và các acid béo thiết yếu. Bổ sung diệp lục vào khẩu phần ăn có thể giúp giảm tình trạng

tăng cân, nâng cao ngưỡng chịu đựng glucose, giảm tình trạng viêm. Các thử nghiệm *in vitro* cũng đã cho thấy diệp lục có khả năng kháng oxy hóa cao, giúp ngăn ngừa các nguy cơ tổn hại sức khỏe do các gốc tự do (Lanfer-Marquez và cs., 2005; Nguyen và cs., 2020). Diệp lục trích ly từ bạc hà, bông cải xanh, húng tây và ớt chuông có thể kiểm soát đường huyết. Diệp lục trong các loại rau sẫm màu có thể giúp ngăn ngừa một số bệnh như ung thư đại tràng và ung thư gan thông qua việc gắn kết với hydrocarbon, aflatoxin và các phân tử kỵ nước khác có liên quan đến quá trình hình thành và phát triển bệnh ung thư (Ebrahimi và cs., 2023). Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu cũng đã đề cập đến khả năng trích ly diệp lục từ nhiều nguồn khác nhau. Tạ Duy Tiên (2008) đã thử nghiệm tạo dẫn xuất chlorophyllin tan trong nước từ lá dây hoàng thanh. Chế phẩm có độ tinh sạch đạt 89,68%. Ảnh hưởng của một số yếu tố lên quá trình tách chiết chlorophyll từ rong mứt cũng được đề cập trong nghiên cứu của Nguyễn Thùy Linh (2014). Hiệu suất thu nhận diệp lục đạt 35µg/L khi trích ly với acetone 80% trong 24 giờ (có bổ sung 500mg CaCO₃). Lê Thị Hồng Ánh (2016) đã sử dụng rong mền *Cheatomorpha* sp. thu nhận ở huyện Đông Hải, tỉnh Bạc Liêu để trích ly diệp lục. Nguyen và cs. (2020) đã nghiên cứu các điều kiện thích hợp để trích ly diệp lục có hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) trong lá cây rau ngót, hàm lượng diệp lục cao nhất đạt 14,43µg/mL. Phạm Quỳnh Trang (2021) đã nghiên cứu trích ly diệp lục từ phân tằm, với hàm lượng đạt 0,598% khi sử dụng hệ dung môi acetone: NH₄OH (9/1).

Trong các loại rau xanh, lá lốt là một nguồn chlorophyll dồi dào (Arshad và cs., 2023). Cây lá lốt có khả năng chịu bóng, phát triển tốt trong các khu vườn ở nông thôn Việt Nam. Tuy nhiên, trích ly diệp lục từ lá lốt vẫn chưa có nhiều công bố. Một số nghiên cứu đề cập đến việc sử dụng lá lốt làm nguồn nguyên liệu trích ly tinh dầu. Bên cạnh việc sử dụng như một loại phụ gia tạo màu cho thực phẩm, hiện nay bột diệp lục trích ly theo quy trình an toàn còn được sử dụng như một loại thực phẩm bổ sung. Những nghiên cứu thực nghiệm cho thấy bột diệp lục có tác dụng khử mùi cơ thể, giảm mùi hôi cho nước tiểu và phân, tăng cường khả năng thanh lọc những cặn bã trong máu, tăng khả năng sản sinh máu (Ebrahimi và cs., 2023). Mặt khác, sản phẩm này còn giúp giảm đau bụng kinh và giảm rối loạn kinh nguyệt, giảm chứng đau nửa đầu, giảm acid dạ dày khi bụng đói (Nguyễn Thùy Linh và Lê Phạm Công Hoang, 2014). Thử nghiệm tạo bột diệp lục từ lá lốt sẽ giúp việc sử dụng sản phẩm thuận tiện hơn, đặc biệt đối với những người khó khăn trong việc sử dụng rau xanh. Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly diệp lục từ lá lốt ở trạng thái tươi được khảo sát như tỷ lệ nguyên liệu, nhiệt độ trích ly, nồng độ ethanol và thời gian trích ly được tối ưu hóa bằng phương pháp đáp ứng bề mặt. Từ đó, thử nghiệm tạo dẫn xuất chlorophyllin tan trong nước và đánh giá hàm lượng trong các điều kiện bảo quản khác nhau.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá lốt: được thu hái tại vườn nhà (phường Tân Định, thành phố Bến Cát, tỉnh Bình Dương). Lá lốt sau khi thu hái được rửa sạch, quạt thông gió cho khô nước trên bề mặt rồi trích ly diệp lục.

Độ ẩm nguyên liệu được xác định theo TCVN 9934:2013. Hàm lượng nước trong lá lốt tươi được ghi nhận 89,8%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết diệp lục

Lá lốt tươi được rửa sạch rồi để khô nước bề mặt. Ngâm 20g lá lốt tươi với dung môi chiết theo các tỷ lệ nghiên cứu. $MgCO_3$ được bổ sung với mức 0,5g trước khi xay. Dịch xay được cho vào bình tam giác tối màu. Giữ các bình tam giác ở các nhiệt độ thí nghiệm với thời gian thích hợp với từng thí nghiệm. Sau đó, mẫu được ly tâm ở tốc độ 6000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch được sử dụng cho các bước thí nghiệm sau (Nguyễn Thùy Linh và Lê Phạm Công Hoang, 2014).

Xác định hàm lượng diệp lục

Đối với dung môi ethanol, mẫu được đo độ hấp thụ ở bước sóng 665 và 652nm. Mẫu trắng (blank) sử dụng trong phân tích chỉ chứa ethanol ở nồng độ tương ứng. Nồng độ chlorophyll a (Chl-a) và nồng độ chlorophyll b (Chl-b) được tính theo công thức (Nguyễn Thùy Linh và Lê Phạm Công Hoang, 2014):

$$[Chl-a] = 16,29 \times A_{665} - 8,54 \times A_{652}$$

$$[Chl-b] = 30,66 \times A_{652} - 13,58 \times A_{665}$$

$$[Chl-ab] = 22,12 \times A_{652} + 2,71 \times A_{665}$$

Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Phân tích ANOVA bằng phần mềm Stargraphic Centurion 15. Thí nghiệm tối ưu hóa ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly được thực hiện bằng phần mềm Modde 5.0.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi trích ly

Tỷ lệ nguyên liệu có ảnh hưởng đến khả năng hòa tan các chất. Lá lốt được ngâm trong ethanol 90% để trích ly diệp lục. Tỷ lệ lá lốt/ethanol giữa các thí nghiệm thức có sự thay đổi: 1/10; 1/15; 1/20 và 1/25. Các bình tam giác tối màu được giữ ở nhiệt độ 60°C. Sau 4 giờ, thu dịch lọc và xác định hàm lượng diệp lục.

Hiệu suất trích ly diệp lục = tổng số diệp lục (mg)/g lá lốt khô

Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly theo thời gian

Ngâm 20g lá lốt tươi trong các bình tam giác tối màu với 300mL ethanol 90% (tỷ lệ lá lốt/ethanol là 1/15); trích ly diệp lục ở các nhiệt độ khác nhau: 30, 40, 50 và 60°C; thu nhận dịch trích ly sau 4 giờ và 8 giờ rồi xác định hàm lượng diệp lục.

Ảnh hưởng của nồng độ ethanol

Lá lốt được ngâm với ethanol trong các bình tam giác tối màu với tỷ lệ 1/15; giữ các bình tam giác ở 40°C. Nồng độ ethanol cuối cùng trong các thí nghiệm thức có sự thay đổi: 60%, 70%, 80%, 90% và 99,7%. Sau 8 giờ, thu nhận dịch trích ly rồi xác định hàm lượng diệp lục.

Tối ưu hóa ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp trực giao hai yếu tố theo mô hình CCF-design. Thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm bằng phần mềm Modde 5.0. Ký hiệu các biến số, giá trị mã hóa và nội dung các thí nghiệm thức được thể hiện trong bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. Ký hiệu các biến số và giá trị mã hóa

Biến số	Ký hiệu	Ký hiệu giá trị mã hóa		
		-1	0	1
Nồng độ ethanol (%)	X1	70	80	90
Thời gian trích ly (giờ)	X2	8	16	24

Bảng 2. Tối ưu ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly diệp lục

Nghiệm thức	Các biến		Nồng độ ethanol (%)	Thời gian trích ly (giờ)	Hiệu suất trích ly diệp lục (mg/g lá lốt khô)
	X1	X2			
N 1	-1	-1	70	8	
N 2	1	-1	90	8	
N 3	-1	1	70	24	
N 4	1	1	90	24	
N 5	-1	0	70	16	
N 6	1	0	90	16	
N 7	0	-1	80	8	
N 8	0	1	80	24	
N 9	0	0	80	16	
N 10	0	0	80	16	
N 11	0	0	80	16	

Mô hình phương trình hồi quy đa thức bậc 2 được sử dụng để mô tả ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly đến hiệu suất thu nhận diệp lục:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2$$

Với: X₁, X₂ là các biến độc lập; a₀ là hệ số phương trình hồi quy; a₁₂ là hệ số tương tác; a₁₁, a₂₂ là hệ số bậc 2; Y là hiệu suất trích ly diệp lục

Thử nghiệm tạo bột diệp lục

Dịch trích ly lá lốt tươi từ thí nghiệm trước có hàm lượng diệp lục cao nhất được sử dụng để tạo bột. Quy trình được đề xuất dựa trên phương pháp tạo dẫn xuất chlorophyllin tan trong nước từ dây hoàng thanh của Tạ Duy Tiên (2008) với một số điều chỉnh nhỏ. Chlorophyll được xà phòng hóa bằng cách sử dụng dung dịch NaOH 0,1N trong ethanol để loại béo; kết tủa chlorophyllin bằng acetone 100% rồi thu nhận bằng cách ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút; tủa được hòa tan lại trong acetone 65%; lớp acetone bên dưới được thu và cô quay thu hồi dung môi. Dung dịch Na-Mg-chlorophyllin thu được sau khi cô quay loại acetone tiếp tục được bổ sung dung dịch CuSO₄ 20mM theo tỉ lệ 1:3 ở pH 3,0, nhiệt độ phòng (30°C); thu nhận tủa và rửa bằng nước cất để loại bỏ CuSO₄ thừa; tủa được huyền phù trong nước cất rồi chỉnh pH về kiềm bằng dung dịch NaOH 0,1N cho đến khi kết tủa tan hoàn toàn. Dung dịch Cu-chlorophyllin được đông khô và nghiền mịn.

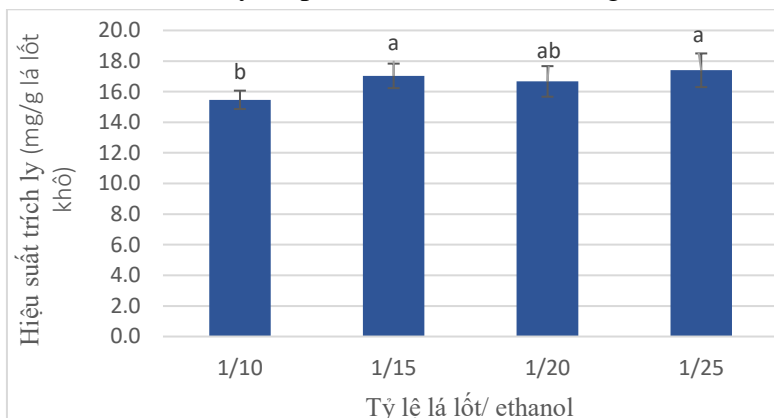
Khảo sát điều kiện đóng gói và bảo quản sản phẩm

Bột diệp lục thử nghiệm được chứa trong hũ thủy tinh tối màu. Giữ các sản phẩm ở nhiệt độ phòng 30±4°C và 5°C. Một số chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm như độ ẩm, hàm lượng diệp lục được đánh giá sau 2, 4 và 6 tháng bảo quản.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi

Lá lốt tươi sau khi rửa sạch, cắt nhỏ được trích ly diệp lục trong ethanol với các thể tích khác nhau. Hiệu suất trích ly diệp lục được thể hiện trong hình 1.

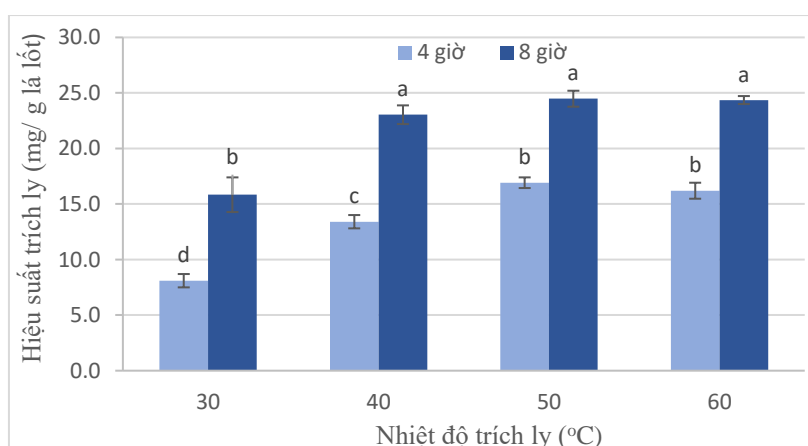


Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi.

Các ký tự trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Tỷ lệ lá lốt/ethanol trong các thí nghiệm có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất trích ly diệp lục thông qua việc gia tăng tốc độ hòa tan của hoạt chất vào dung môi. Khi tăng lượng ethanol sử dụng, từ tỷ lệ 1/15 đến 1/25, hàm lượng diệp lục thu được cao hơn đáng kể so với khi trích ly ở tỷ lệ 1/10 (ngoại trừ tỷ lệ 1/15 không khác biệt so với tỷ lệ 1/10). Tuy nhiên, lượng dung môi sử dụng quá nhiều sẽ không làm tăng thêm hiệu quả trích ly mà còn giảm hiệu quả về kinh tế. Tỷ lệ 1/15 đem lại hiệu quả trích ly cao nhất, hàm lượng diệp lục thu nhận đạt $17,0 \pm 0,8$ mg/g lá lốt khô. Kết quả này cũng không khác biệt nhiều so với các công bố khác. Nghiên cứu của Arshad và cs. (2023) cho thấy hiệu quả trích ly đạt 1,112 mg/g lá lốt tươi khi sử dụng acetone 80% làm dung môi trích ly với tỷ lệ 1/40. Các dung môi chiết khác cũng có thể mang lại hiệu quả tương tự khi trích ly với tỷ lệ thích hợp. Từ kết quả trên, tỷ lệ lá lốt/ ethanol 1/15 được sử dụng cho nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất trích ly diệp lục.

Các ký tự khác nhau trong thể hiện mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

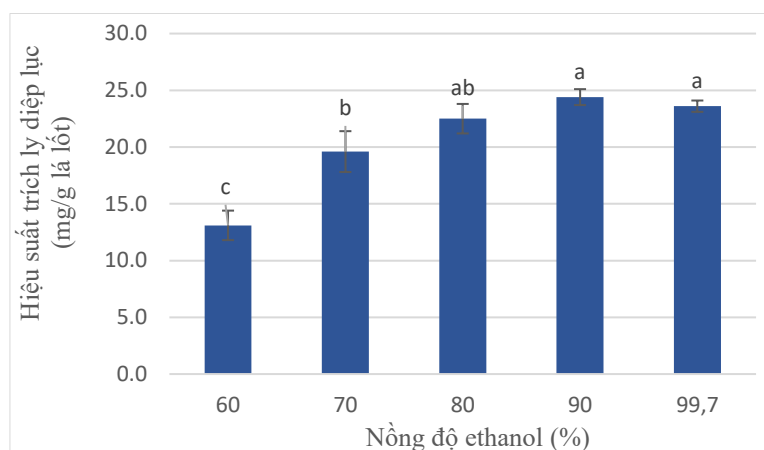
Nhiệt độ ảnh hưởng đến khả năng hòa tan các chất vào dung dịch, qua đó ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly diệp lục từ lá lốt. Thí nghiệm được tiến hành với sự thay đổi nhiệt

độ ở các mức khác nhau: 30, 40, 50 và 60°C. Sau 4 giờ và 8 giờ, hiệu suất trích ly diệp lục trong các nghiệm thức được thể hiện trong hình 2.

Nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu quả trích ly diệp lục từ lá lốt. Kết quả phân tích sau 4 giờ cho thấy hàm lượng diệp lục tăng nhanh chóng khi nhiệt độ tăng từ 30 lên 50°C. Tuy nhiên, nghiệm thức 60°C có kết quả không khác biệt so với nghiệm thức 50°C. Sau 8 giờ ngâm, mặc dù hàm lượng diệp lục gia tăng ở tất cả các nghiệm thức, nhưng không có sự khác biệt khi thay đổi nhiệt độ trích ly từ 40 đến 60°C. Nghiệm thức trích ly diệp lục ở 40°C trong 8 giờ được sử dụng để tiến hành cho thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol

Ảnh hưởng của nồng độ ethanol được khảo sát bằng cách thay đổi nồng độ ethanol trong các nghiệm thức: 60%, 70%, 80%, 90% và 99,7%. Tỷ lệ lá lốt/dung môi là 1/15. Quá trình trích ly diệp lục được duy trì ở 40°C trong 8 giờ. Hiệu suất thu nhận diệp lục được thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hiệu suất trích ly diệp lục. Các ký tự khác nhau trong thể hiện mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$)

Diệp lục không tan trong nước nhưng tan tốt trong dung môi hữu cơ như aceton, methanol, ethanol... Trong nền mẫu lá với sự tồn tại của nhiều chất khác nhau, nồng độ ethanol có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng trích ly diệp lục từ lá lốt. Ở các nghiệm thức có nồng độ ethanol thấp (60 và 70%), khả năng hòa tan của diệp lục thấp hơn đáng kể so với các nghiệm thức sử dụng ethanol ở mức cao hơn (80 đến 99,7%). Ở nghiệm thức sử dụng ethanol 80%, hàm lượng diệp lục trong dịch trích đạt $22,5 \pm 1,3$ mg/g lá lốt. Kết quả này khác biệt đáng kể so với khi trích ly diệp lục từ rong nước lợ (*Cheatomorpha* sp.). Hiệu quả trích ly diệp lục tổng số giảm khi tăng nồng độ ethanol từ 80% lên 99% (Lê Thị Hồng Ánh và cs., 2016). Tuy nhiên, ảnh hưởng của nồng độ ethanol ở các mức 70, 80 và 90% chưa rõ ràng. Bên cạnh đó, sự gia tăng hàm lượng diệp lục theo thời gian không giống nhau ở các nồng độ ethanol khác nhau. Ảnh hưởng đồng thời của nồng độ ethanol và thời gian trích ly sẽ được tối ưu trong thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Tối ưu hóa ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly

Phương pháp đáp ứng bề mặt được sử dụng để tối ưu hóa ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly lên hiệu suất thu nhận diệp lục. Nồng độ ethanol được thay đổi ở 3 mức: 70%, 80% và 90%. Thời gian trích ly được thay đổi ở 3 mức: 8 giờ, 16 giờ và 24 giờ. Kết quả xử lý số liệu được thể hiện trong bảng 3.

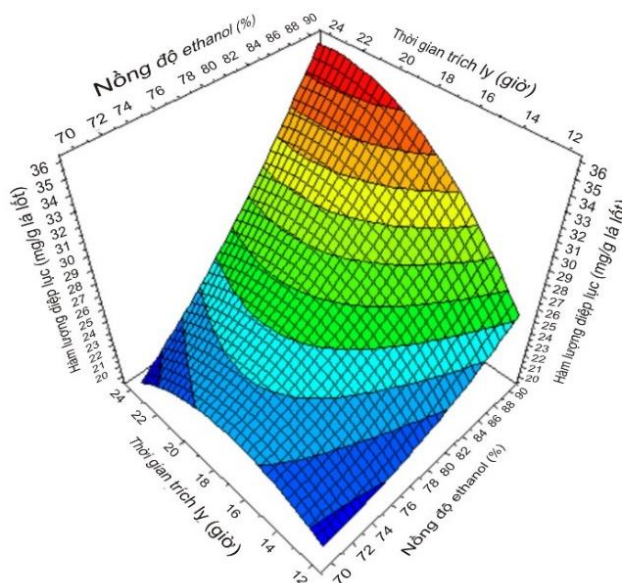
Bảng 3. Ảnh hưởng của các biến đến hiệu suất trích ly diệp lục từ lá lốt

Hiệu suất trích ly diệp lục	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int (±)
Constant	26,9568	1,02433	1,48071e-006	2,63314
X1	2,39333	0,815188	0,0324092	2,09551
X2	5,53333	0,815188	0,00105589	2,09551
X1*X1	-2,9221	1,25455	0,0672775	3,22492
X2*X2	1,2579	1,25455	0,362046	3,22492
X1*X2	2,85	0,998397	0,0356321	2,56647
N = 11	Q ² = 0,323	Cond. no. = 3,0822		
	DF = 5	R ² = 0,932	Y-miss = 0	
	R ² Adj. = 0,864	RSD = 1,9968		
		Conf. lev. = 0,95		

Theo mô hình hồi quy, ảnh hưởng của mỗi biến số được trình bày trong bảng 3 với mức ý nghĩa 95%. Kết quả cho thấy nồng độ ethanol và thời gian trích ly có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất trích ly diệp lục từ lá lốt tươi. Kết quả xử lý số liệu cho thấy phương trình có tính hồi quy tốt với R² = 0,932 (>0,8). Theo đó, các tham số không có ý nghĩa (P>0,05) được loại bỏ, phương trình hồi quy thu được như sau:

$$Y = 26,9568 + 2,39333X_1 + 5,53333X_2 + 2,85X_1X_2$$

Trong đó, Y là hiệu suất trích ly diệp lục (mg/g lá lốt); X₁ là nồng độ ethanol (%); X₂ là thời gian trích ly (giờ).



Hình 4. Đáp ứng bề mặt thể hiện ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian trích ly đến hàm lượng diệp lục từ lá lốt tươi

Tối ưu bằng phần mềm Modde 5.0, hiệu quả trích ly diệp lục được ghi nhận khi trích ly với ethanol 90% trong 23,4 giờ, đạt 36,1mg/g. Kiểm tra bằng thực nghiệm cho thấy hàm lượng diệp lục trong dịch trích đạt 34,8mg/g lá lốt. Ảnh hưởng đồng thời của nồng độ ethanol và thời gian ngâm đến hiệu suất trích ly diệp lục cũng đã được đề cập trong công bố của Nguyễn Thị Vân Anh và cs. (2014). Hiệu quả trích ly diệp lục từ rau ngót cao nhất được ghi nhận sau 40 giờ với ethanol nồng độ 92%. Sự khác biệt về nguyên liệu thực vật có thể là nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt đáng kể về thời gian trích ly.

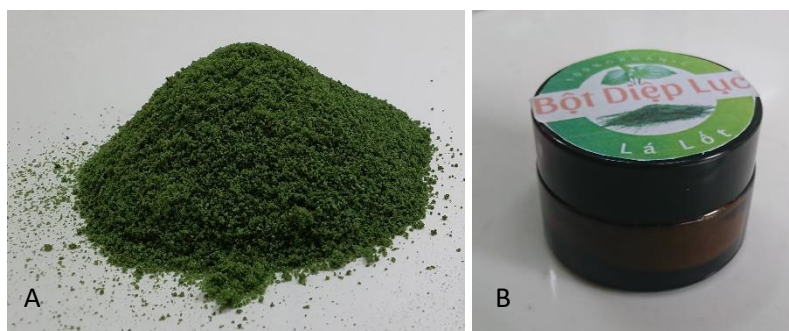
3.5. Khảo sát điều kiện đóng gói và bảo quản sản phẩm

Diệp lục được trích ly từ lá lốt tươi bằng ethanol 90% với tỷ lệ 1/15 (lá lốt/ethanol) trong 23,4 giờ. Sản phẩm bột diệp lục được tạo thành theo quy trình của Tạ Duy Tiên (2008). Bột diệp lục được đóng gói trong các hũ thủy tinh tối màu, bảo quản ở 5°C và nhiệt độ phòng (~30°C). Hàm lượng diệp lục trong các sản phẩm thử nghiệm sau 2 tháng, 4 tháng và 6 tháng bảo quản được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của bao bì sản phẩm đến hàm lượng diệp lục

Thời gian bảo quản	Hàm lượng diệp lục (mg/g sản phẩm)		Độ ẩm (%)	
	5°C	Nhiệt độ phòng	5°C	Nhiệt độ phòng
Ban đầu	2,56 ^a ± 0,06	2,56 ^a ± 0,06	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,1
2 tháng	2,48 ^b ± 0,13	1,92 ^c ± 0,12	3,6 ± 0,1	4,0 ± 0,1
4 tháng	2,51 ^b ± 0,16	1,67 ^d ± 0,05	3,7 ± 0	4,7 ± 0,2
6 tháng	2,11 ^c ± 0,05	1,56 ^e ± 0,02	3,8 ± 0,2	4,8 ± 0,2

Các ký tự khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% (p<0,05).



Hình 5. A) Bột diệp lục sấy lạnh; B) Bảo quản trong hũ thủy tinh

Nhiệt độ bảo quản có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng diệp lục trong sản phẩm. Sau 2 tháng, hàm lượng diệp lục đều giảm khi bảo quản ở 5°C và nhiệt độ phòng. Tuy nhiên, ở nhiệt độ lạnh (5°C), hàm lượng diệp lục giảm chậm hơn đáng kể so với khi lưu trữ ở nhiệt độ phòng. Sau 6 tháng, sản phẩm bảo quản ở 5°C giảm 17,5%, thấp hơn so với 39% khi lưu trữ ở nhiệt độ phòng. Cùng với đó, độ ẩm của sản phẩm ở nhiệt độ phòng cũng có sự gia tăng đáng kể so với ban đầu (bảng 4). Nghiên cứu của Kwartiningsih và cs. (2014) cũng cho thấy hàm lượng diệp lục trong rau ngót giảm đến 63% khi để ở nhiệt độ 30°C chỉ sau 5 ngày bảo quản. Diệp lục rất nhạy cảm với các tác nhân oxy hóa phổ biến như ánh sáng mặt trời, nhiệt độ và oxy trong không khí. Đóng gói sản phẩm trong các vật chứa tối màu lưu trữ ở nhiệt độ lạnh là các biện pháp để đảm bảo chất lượng sản phẩm bột diệp lục. Ngoài ra, bổ sung các hoạt chất chống oxy hóa tự nhiên như vitamin C cũng giúp ổn định hàm lượng diệp lục.

4. Kết luận

Hàm lượng diệp lục thu được từ lá lốt tươi đạt giá trị cao nhất khi sử dụng ethanol 90%, tỷ lệ lá lốt/ dung môi 1/15, nhiệt độ 40°C trong 23,4 giờ, đạt 34,8mg/g lá lốt. Dẫn xuất Na-Cu-Chlorophyllin điều chế từ diệp lục lá lốt có hàm lượng ổn định hơn khi bảo quản ở nhiệt độ lạnh so với nhiệt độ phòng. Hàm lượng diệp lục trong sản phẩm giảm 17,5% sau 6 tháng bảo quản ở 5°C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Arshad M., Kamaruddin S.A., Aziz K.N.A., Khazali A.F., Hashim M.A., Zulkffle M.A., Hashim A.R., Bakar L.M. and Abdullah M.Z. (2023). Quantification of chlorophyll content in leaves of *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa*, *Durio zibethinus*, *Garcinia mangostana*, *Spinacia oleracea*, *Piper betle*, *Piper sarmentosum* and *Centella asiatica*. *International journal of Innovation and Industrial revolution (IJIREV)*, 5(14), 125-132. Doi 10.35631/IJIREV.514009
- [2] Ebrahimi P, Shokramraji Z, Tavakkoli, S., Mihaylova D. and Lante A. (2023). Chlorophylls as natural bioactive compounds existing in food by-products: A critical review. *Plants*, 12, 1533. <https://doi.org/10.3390/plants12071533>.
- [3] Kwartiningsih E., Ramadhani A.N., Ami N.G., Damara P.V.C.J. (2021). Chlorophyll extraction methods review and chlorophyll stability of Katuk leaves (*Sauropus androgynous*). ICETIA 2020. *Journal of Physics: Conference Series*, 1858, 012015. doi:10.1088/1742-6596/1858/1/012015
- [4] Lanfer-Marquez U.M., Barros R., and Sinnecker P. (2005). Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, 38, 885-891.
- [5] Lê Thị Hồng Anh, Hoàng Thị Ngọc Nhon, Nguyễn Minh Kiên và Trần Trung Kiên (2016). Nghiên cứu thu nhận bột màu chlorophyll từ rong nước lợ *Cheatomorpha* sp. đồng bằng sông Cửu Long. *Tap chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 10, 30-38.
- [6] Nguyen N.H.K., Tien H.T.C., Truc T.T., and Quoc L.P.T. (2020). Chlorophyll content and antioxidant activity from folium sauropi (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) with microwave-assisted extraction. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*.
- [7] Nguyễn Thị Vân Anh, Bùi Thị Liên, Vũ Thành Hưng, Trần Thanh Quỳnh Anh (2014). Nghiên cứu ảnh hưởng của trạng thái nguyên liệu và ba thông số chiết (dung môi chiết, thời gian chiết và lượng xúc tác) đến hàm lượng chlorophyll thu nhận từ rau ngót. *Tap chí khoa học Đại học Huế: nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 94(6).
- [8] Nguyễn Thùy Linh và Lê Phạm Công Hoang (2014). Ảnh hưởng của một số yếu tố lên quá trình tách chiết chlorophyll từ rong mút (*Porphyra* sp). Báo cáo Khoa học Khoa Thủy Sản Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, 514-519.
- [9] Phạm Quỳnh Trang, Đỗ Trung Sỹ, Trần Hữu Quang, Hoàng Thị Bích, Phạm Thị Hồng Minh, Vũ Minh Quang và Nguyễn Thị Hương (2021). Nghiên cứu quy trình chiết xuất chlorophyll từ phân tằm. *Tap chí Khoa học và Công nghệ*, 57(1), 117-120.
- [10] Tạ Duy Tiên, Dương Thị Hương Giang và Phan Thị Bích Trâm (2008). Tách chiết, tinh sạch pectin và điều chế dẫn xuất chlorophyllin tan trong nước từ lá dây hoàng thanh *Cocculus sarmentosus* (lour.) Diels. *Tap chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ*, 10, 118-125.
- [11] Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định TCVN 9934:2013. Tinh bột – xác định độ ẩm – dùng phương pháp sấy. Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F18 Đường, mật ong và sản phẩm tinh bột biên soạn.