DOI: https://doi.org/10.62985/j.huit_ojs.vol26.no4.667

THU NHẬN POLYPHENOL TỔNG TỪ VỎ HỒNG VỚI SỰ HỖ TRỢ CỦA DUNG MÔI EUTECTIC SÂU

Huỳnh Thị Lê Dung[1], Nguyễn Hoàng Trúc[1], Tiêu Trọng Tín[1], Nguyễn Dương Thiên Tú[1], Huỳnh Lê Thanh Ngân[1], Phan Văn Mẫn[2], Trần Chí Hải[1]*

[1]Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

[2]Khoa Du lịch, Trường Cao đẳng Kỹ thuật Công nghệ Bà Rịa-Vũng Tàu

*Email: *haitc@huit.edu.vn*

Ngày nhận bài: 17/01/2025; Ngày nhận bài sửa: 18/3/2025; Ngày chấp nhận đăng: 02/4/2025

TÓM TẮT

Polyphenol trong vỏ hồng (*Diospyros kaki* L.) là nhóm hợp chất có giá trị sinh học, đặc biệt liên quan đến khả năng chống oxy hóa, nhưng nguồn nguyên liệu này vẫn chưa được khai thác hiệu quả. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng sử dụng dung môi eutectic sâu (deep eutectic solvent, DES) để thu nhận polyphenol từ vỏ hồng, đồng thời xác định điều kiện chiết thích hợp và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết. Kết quả cho thấy hệ choline chloride/acid lactic (ChCl/LA) với 30% nước bổ sung, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/40 (w/v) và thời gian xử lý 120 phút ở 70 °C cho hiệu quả tốt nhất. Ở điều kiện này, hàm lượng polyphenol tổng đạt cao gấp 6,8 lần và hoạt tính bắt giữ gốc tự do DPPH cao gấp 1,6 lần so với khi sử dụng ethanol 70% trong cùng điều kiện chiết. Phân tích FTIR cho thấy quá trình xử lý bằng DES làm thay đổi một số đặc trưng cấu trúc của dịch chiết, thể hiện qua sự xuất hiện và thay đổi cường độ của các dải hấp thụ liên quan đến nhóm chức. Những kết quả thu được cho thấy ChCl/LA có khả năng nâng cao hiệu quả thu nhận các hợp chất polyphenol từ vỏ hồng và có thể được xem xét như một hệ dung môi theo hướng thân thiện hơn với môi trường trong quá trình khai thác hợp chất có hoạt tính sinh học từ phụ phẩm thực vật.

Từ khóa: Dung môi eutectic sâu, hoạt tính kháng oxy hóa, polyphenol, trích ly, vỏ hồng.

1. MỞ ĐẦU

Quả hồng (*Diospyros kaki* L.) là loại quả được trồng phổ biến tại một số quốc gia châu Á như Hàn Quốc, Trung Quốc và Nhật Bản. Bên cạnh giá trị dinh dưỡng, quả hồng còn chứa nhiều nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học, bao gồm carotenoid, vitamin và các hợp chất phenolic. Các thành phần này được quan tâm nhờ khả năng chống oxy hóa và những lợi ích tiềm năng đối với sức khỏe [1]. Trong số đó, proanthocyanidin, đặc biệt là tannin cô đặc, được xem là một trong những nhóm chất đóng góp đáng kể vào hoạt tính chống oxy hóa của quả hồng. Đáng chú ý, phần vỏ thường bị loại bỏ trong quá trình chế biến nhưng vẫn chứa một lượng đáng kể polyphenol, cho thấy đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng để thu nhận các hợp chất có giá trị sinh học [2].

Polyphenol là nhóm hợp chất thực vật đa dạng về cấu trúc, đặc trưng bởi sự hiện diện của các nhóm hydroxyl trên khung vòng thơm. Đặc tính cấu trúc này liên quan mật thiết đến khả năng tham gia các phản ứng chống oxy hóa của chúng. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận mối liên hệ giữa polyphenol với khả năng bảo vệ tế bào trước tác động của các gốc tự do, đồng thời cho thấy tiềm năng của nhóm hợp chất này trong việc hỗ trợ giảm nguy cơ liên quan đến một số bệnh mạn tính như bệnh tim mạch, ung thư, loãng xương và đái tháo đường [3]. Vì vậy, việc phát triển các phương pháp phù hợp nhằm thu nhận polyphenol từ nguồn nguyên liệu thực vật đang nhận được nhiều sự quan tâm.

Trong những năm gần đây, dung môi eutectic sâu (deep eutectic solvent, DES) được nghiên cứu như một hướng tiếp cận thay thế cho một số dung môi hữu cơ truyền thống trong quá trình chiết xuất hợp chất có hoạt tính sinh học. DES thường được tạo thành từ sự kết hợp giữa chất nhận liên kết hydro và chất cho liên kết hydro, tạo nên hệ dung môi có các đặc tính hóa lý phù hợp cho quá trình hòa tan và

thu nhận nhiều nhóm hợp chất khác nhau. So với một số dung môi truyền thống, DES có ưu điểm về độ bay hơi thấp, khả năng điều chỉnh tính chất thông qua việc lựa chọn các thành phần cấu tạo và quy trình điều chế tương đối đơn giản [4].

Hiệu quả của DES trong thu nhận hợp chất phenolic đã được ghi nhận trên nhiều nguồn nguyên liệu thực vật. Chẳng hạn, việc sử dụng DES để chiết polyphenol từ vỏ anh đào (*Prunus cerasus*) cho hiệu quả cao hơn so với phương pháp chiết sử dụng ethanol truyền thống [4]. Một nghiên cứu khác khi khảo sát các hệ DES khác nhau để thu nhận polyphenol từ vỏ mít cũng ghi nhận sự khác biệt đáng kể về hàm lượng polyphenol tổng giữa các hệ dung môi, với TPC của dịch chiết nằm trong khoảng 70,86-146,69 mg GAE/g CK; trong khi một số hệ DES cho giá trị TPC từ 92,36 đến 156,17 mg GAE/g CK [5].

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

2.1.1. Nguyên liệu

Vỏ hồng (*Diospyros kaki* L.) được sử dụng làm nguyên liệu nghiên cứu được thu mua tại cơ sở sản xuất hồng treo gió Cầu Đất Farm, Đà Lạt. Sau khi thu mua, vỏ hồng được rửa bằng nước để loại bỏ tạp chất, sau đó ráo nước và sấy ở 60 °C trong 7 giờ đến khi độ ẩm giảm xuống dưới 10%. Mẫu sau sấy được xay nhỏ và rây qua rây có kích thước 0,5 mm. Bột vỏ hồng thu được được chứa trong túi zip có khóa kéo và được bảo quản trong tủ mát cho đến khi tiến hành thí nghiệm.

2.1.2. Hóa chất

Choline chloride (ChCl) (>98%, Ấn Độ), glycerol (Gly) (>99%, Trung Quốc), ethylene glycol (EG) (Trung Quốc), acid lactic (LA) (Trung Quốc), acid citric (CA) (Trung Quốc), Trolox (acid 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic) (>97%), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (>90%), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (>99%), thuốc thử Folin-Ciocalteu, acid gallic tinh khiết, sodium carbonate (Na_2CO_3) 7,5%, ethanol 96% (Việt Nam). Toàn bộ hóa chất được sử dụng đều đáp ứng tiêu chuẩn cần thiết cho các phép phân tích trong nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị dung môi eutectic sâu

Các loại dung môi DES được điều chế bằng cách phối trộn choline chloride (chất nhận liên kết hydro (hydrogen bond acceptor, HBA), một trong số các loại chất cho liên kết hydro (hydrogen bond donor, HBD) như glycerol, ethylene glycol, acid lactic và acid citric theo tỷ lệ mol là 1:2 và nước. Hỗn hợp DES được đun khuấy bằng bếp khuấy từ ở 80°C trong 2 giờ. Sau đó, hỗn hợp dung dịch được để nguội ở nhiệt độ môi trường và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh. Hỗn hợp sẽ được sử dụng sau khi pha chế ít nhất 12 giờ.

2.2.2. Thu nhận polyphenol tổng và đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa từ vỏ hồng sử dụng dung môi eutectic sâu

Mẫu bột vỏ hồng (0,5 g) được chuyển vào cốc thủy tinh có dung tích 100 mL và phối trộn với DES theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/20 (w/v). Hỗn hợp được chiết trong bể ổn nhiệt ở 60 °C, tốc độ lắc 150 rpm trong 60 phút. Sau khi kết thúc quá trình chiết, hỗn hợp được lọc để thu dịch chiết, sau đó sử dụng cho các phép xác định TPC, DPPH và ABTS.

Các thí nghiệm được tiến hành khảo sát đơn yếu tố, chỉ thay đổi một thông số và cố định các thông số còn lại. Trước tiên, khảo sát loại dung môi DES sử dụng được thực hiện với 4 loại dung môi gồm ChCl/glycerol (ChCl/Gly), ChCl/ethylene glycol (ChCl/EG), ChCl/acid lactic (ChCl/LA) và ChCl/acid citric (ChCl/CA). Các thông số còn lại được cố định. Tiếp theo, khảo sát lượng nước bổ sung vào DES với 5 mức là 10%, 20%, 30%, 40% và 50%. Kế đến, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi được xem xét với các nghiệm thức lần lượt là 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50 (w/v), trong khi loại dung môi DES và lượng nước bổ sung được lựa chọn từ hai khảo sát trước. Cuối cùng, yếu tố thời gian xử lý được khảo sát với các mức 30, 60, 90, 120, 150 và 180 phút ở nhiệt độ 60 ºC, giữ nguyên loại DES, lượng nước bổ sung và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi.

2.2.3. Đánh giá hiệu quả của phương pháp trích ly bằng dung môi eutectic sâu và phương pháp trích ly bằng ethanol

Tại điều kiện phù hợp đã được lựa chọn từ thí nghiệm ở nội dung 2.2.2, mẫu vỏ hồng được tiến hành trích ly thu lấy dịch chiết xác định các giá trị hàm mục tiêu gồm hàm lượng TPC, khả năng kháng oxy hóa (DPPH và ABTS) và phần bã sau trích ly được chụp hình kính hiển vi điện tử quét. Đối với nghiệm thức đối chứng, ethanol 70% được sử dụng thay cho DES, trong khi các điều kiện chiết được duy trì tương tự các nghiệm thức sử dụng DES.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số (TPC)

Hàm lượng polyphenol tổng số trong dịch chiết được xác định bằng thuốc thử Folin–Ciocalteu theo phương pháp của Denev và Yordanov [6], có điều chỉnh phù hợp với điều kiện nghiên cứu. Dịch chiết sau khi pha loãng được lấy 1 mL cho vào ống nghiệm, tiếp theo bổ sung 0,5 mL thuốc thử Folin–Ciocalteu và trộn đều. Sau 5 phút, thêm 1 mL Na_2CO_3 7,5% và tiếp tục phối trộn. Hỗn hợp được giữ trong điều kiện tránh ánh sáng trong 60 phút trước khi đo độ hấp thụ tại bước sóng 765 nm. Kết quả TPC được biểu thị theo mg đương lượng acid gallic trên gam chất khô (mg GAE/g CK).

2.3.2. Đánh giá khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radical)

Khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH của dịch chiết được đánh giá dựa trên phương pháp của Payum và cộng sự [7]. Một thể tích 0,1 mL dịch chiết đã được pha loãng được cho vào ống nghiệm chứa 3 mL dung dịch DPPH. Sau đó, hỗn hợp được bổ sung 2,9 mL dung dịch thuốc thử DPPH và trộn đều bằng máy vortex. Các ống nghiệm được ủ trong điều kiện tránh ánh sáng ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ của mẫu được ghi nhận tại bước sóng 517 nm. Từ giá trị hấp thụ thu được, khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH được tính theo công thức (1).

$$Phần\ trăm\ ức\ chế\ (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó, A_0 là giá trị hấp thụ của mẫu đối chứng và A_1 là giá trị hấp thụ của mẫu dịch chiết. Hoạt tính kháng oxy hóa được biểu thị dưới dạng hàm lượng Trolox tương đương, tính theo mg Trolox trên gam chất khô (mg TE/g CK).

2.3.3. Xác định hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

Dung dịch ABTS được chuẩn bị theo phương pháp của Elouafy và cộng sự [8]. Trước tiên, dung dịch ABTS được tạo thành từ 7,4 mM ABTS và 2,45 mM potassium persulfate ($K_2S_2O_8$), sau đó để phản ứng trong điều kiện tránh ánh sáng ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Dung dịch thu được tiếp tục được pha loãng bằng methanol cho đến khi giá trị độ hấp thụ tại 734 nm đạt 0,70 ± 0,05. Dung dịch này được sử dụng làm thuốc thử ABTS trong phép phân tích.

Để tiến hành phép thử, 0,4 mL dịch chiết đã pha loãng được chuyển vào ống nghiệm và phối hợp với 3,0 mL dung dịch ABTS đã chuẩn bị. Hỗn hợp được trộn đều bằng máy vortex rồi giữ trong điều kiện tránh ánh sáng ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau thời gian phản ứng, độ hấp thụ được đo tại 734 nm. Khả năng bắt giữ gốc tự do ABTS được xác định theo công thức (2).

$$Phần\ trăm\ ức\ chế\ (\%) = \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100 \quad (2)$$

Trong đó, OD_m và OD_c lần lượt là giá trị mật độ quang OD của mẫu thử và mẫu đối chứng. Khả năng kháng oxy hóa theo ABTS được tính theo mg Trolox/g chất khô (mg TE/g CK).

2.3.4. Phân tích kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Cấu trúc hình thái bề mặt được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) (Quanta 650 – FEG, FEI, USA). Mẫu vỏ hồng nguyên liệu, mẫu bã được chiết bằng ethanol và mẫu bã được chiết bằng dung môi eutectic sâu đã được sấy khô, mạ một lớp Pt. Hình ảnh được chụp với điện thế 5 kV với độ phóng đại 5.000 lần.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

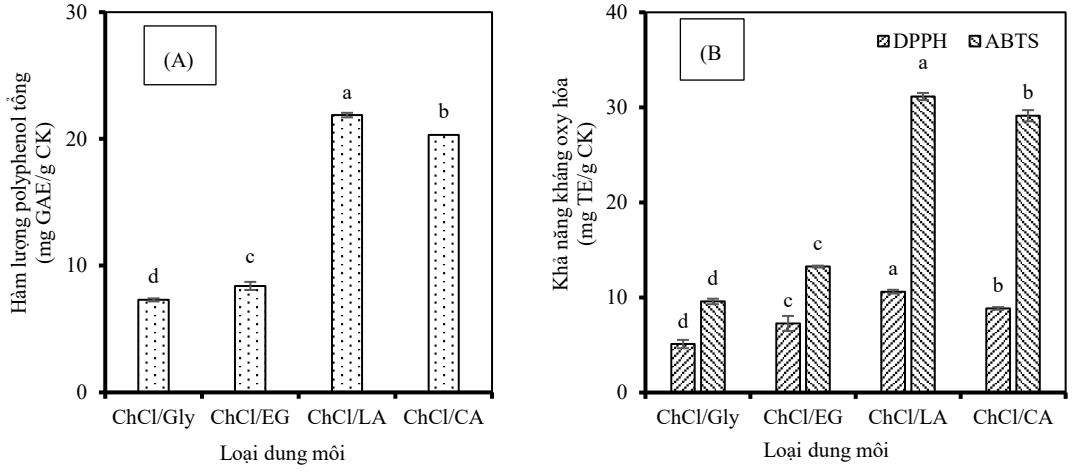
Mỗi nghiệm thức được thực hiện 3 lần lặp độc lập. Dữ liệu thu được được tổng hợp dưới dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (mean ± SD). Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được kiểm tra bằng phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA), tiếp theo là phép thử LSD với mức ý nghĩa α = 0,05. Các phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm Minitab 19.2 Portable; biểu đồ được xây dựng bằng Microsoft Excel 365.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại dung môi DES đến khả năng thu nhận polyphenol tổng

Loại dung môi là một yếu tố quan trọng trong quy trình trích ly với DES [9], các loại dung môi được khảo sát là ChCl/Gly, ChCl/EG, ChCl/LA và ChCl/CA. Hình 1 cho thấy hàm lượng polyphenol trích ly được từ các loại dung môi khác nhau thay đổi rất rõ rệt. Hàm lượng polyphenol thu được từ loại dung môi ChCl/LA là cao nhất (21,88 ± 0,32 mg GAE/g CK). Hàm lượng này lớn hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các loại dung môi như ChCl/CA, ChCl/EG và ChCl/Gly, lần lượt là 1,08, 2,60, 3,00 lần (Hình 1A). Khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH và ABTS cũng có quy luật tương tự (Hình 1B). Điều này cho thấy có sự tương quan thuận giữa khả năng kháng oxy hóa với hàm lượng polyphenol tổng thu được. Cụ thể, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS của dịch chiết được thu nhận bằng dung môi ChCl/LA đạt 10,61 ± 0,20 mg TE/g CK và 31,14 ± 0,38 mg TE/g CK. Các giá trị này cao hơn so với dung môi ChCl/CA (1,20 lần theo DPPH và 1,07 lần theo ABTS), ChCl/EG (1,46 lần theo DPPH và 2,35 lần theo ABTS) và ChCl/Gly (2,08 lần theo DPPH và 3,25 lần theo ABTS).

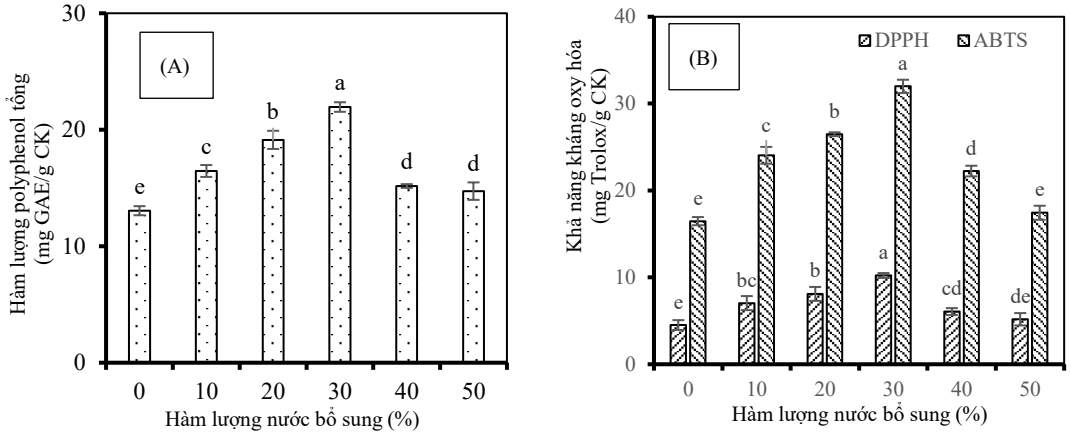
Sự khác biệt về hiệu quả thu nhận polyphenol giữa các hệ DES có thể liên quan đến bản chất của các thành phần cho liên kết hydro (HBD). Mặc dù các nghiệm thức đều sử dụng choline chloride làm HBA, HBD được thay đổi giữa glycerol, ethylene glycol, acid lactic và acid citric, từ đó làm thay đổi các đặc tính hóa lý của hệ dung môi. Trong nghiên cứu này, các hệ chứa acid hữu cơ cho khả năng thu nhận polyphenol cao hơn hai hệ chứa alcohol đa chức. Điều này có thể được giải thích bởi sự khác biệt về độ phân cực và khả năng tương tác giữa dung môi với các hợp chất phenolic trong nguyên liệu [10]. Đáng chú ý, ChCl/LA cho hiệu quả cao nhất, trong khi ChCl/CA thấp hơn. Một khả năng là độ nhớt của hệ ChCl/CA cao hơn, làm hạn chế quá trình khuếch tán và truyền khối của các chất tan từ nguyên liệu vào pha dung môi [11]. Xu hướng này cũng tương đồng với kết quả được Alsaud và cộng sự [9] ghi nhận khi sử dụng các hệ DES có choline chloride làm HBA để thu nhận các hợp chất polyphenol từ lá tràm trà.



Hình 1. Ảnh hưởng của loại dung môi DES đến hàm lượng polyphenol tổng (A), khả năng kháng oxy hóa DPPH và ABTS (B). Các cột mang các chữ cái khác nhau ($^{a, b, c, d,\ldots}$) trong cùng một chỉ tiêu biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

3.2. Ảnh hưởng của lượng nước bổ sung vào dung môi DES đến khả năng thu nhận polyphenol tổng

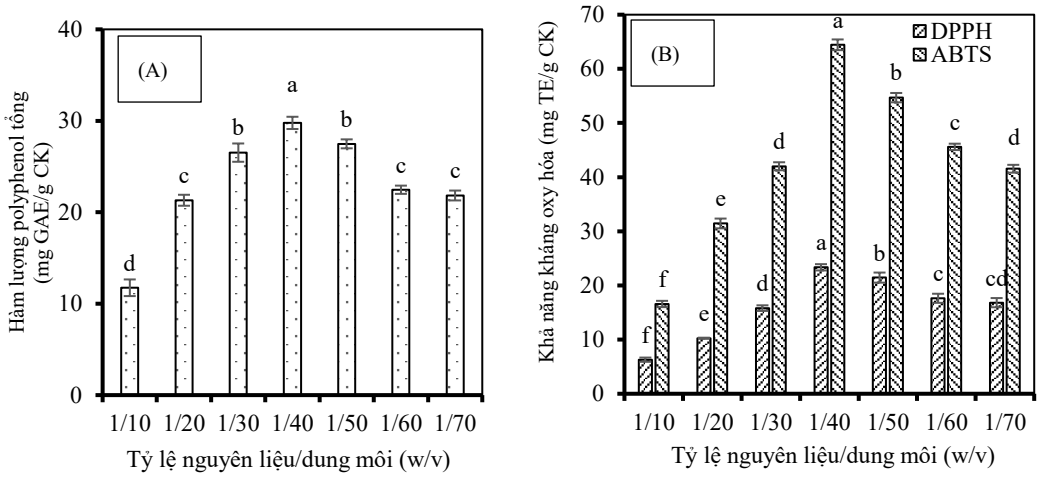
Việc bổ sung nước vào dung dịch DES giúp tăng khả năng trích ly polyphenol tổng từ vỏ hồng. Các mẫu được bổ sung nước đều có hàm lượng polyphenol tổng cao hơn mẫu không bổ sung nước (Hình 2A). Khi hàm lượng nước bổ sung tăng từ 0% đến 30%, hàm lượng polyphenol tổng có xu hướng tăng. Hàm lượng polyphenol tổng cao nhất tại lượng nước bổ sung 30% đạt 21,95 ± 0,41 mg GAE/g CK, tăng 1,68 lần so với nghiệm thức DES không thêm nước. Tuy nhiên, nếu hàm lượng nước tiếp tục tăng thì hàm lượng polyphenol tổng lại có xu hướng giảm, song vẫn cao gấp 1,16 lần tại mẫu có lượng nước bổ sung 40% và 1,12 lần tại mẫu có lượng nước bổ sung 50% so với mẫu không bổ sung nước. Tại hai nghiệm thức lượng nước bổ sung 40% và 50%, hàm lượng polyphenol tổng không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$). Cũng theo xu hướng đó, khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH và ABTS tại lượng nước bổ sung 30% lần lượt đạt 10,22 ± 0,28 mg TE/g CK (cao gấp 2,27 lần so với dung môi không thêm nước) và 31,99 ± 0,76 mg TE/g CK (cao gấp 1,94 lần so với dung môi không thêm nước) (Hình 2B). Kết quả này là do quá trình bổ sung nước giúp giảm độ nhớt của dung dịch, cải thiện sự khuếch tán và tăng hiệu quả truyền khối của các polyphenol vào trong dung môi [12]. Tuy nhiên, nếu lượng nước được thêm vào dư thừa sẽ làm giảm hiệu suất trích ly do sự mất cân bằng các liên kết hydro giữa HBA và HBD [11]. Quy luật tương tự cũng được tìm thấy trong nghiên cứu Dabetić và cộng sự [5]. Nhóm tác giả nhận thấy 30% là lượng nước bổ sung tốt nhất để giảm độ nhớt cho dung môi ChCl/CA và thu nhận hàm lượng polyphenol hiệu quả nhất từ nguyên liệu hạt và vỏ nho (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*). Ngoài ra, Pal và cộng sự [13] cũng cho rằng khi bổ sung hàm lượng nước trên 30% sẽ làm giảm hiệu suất chiết đối với các hợp chất polyphenol từ vỏ hành tây (*Allium cepa* L.) bằng dung môi ChCl/Ure.



Hình 2. Ảnh hưởng của lượng nước bổ sung vào dung môi DES đến hàm lượng polyphenol tổng (A), khả năng kháng oxy hóa DPPH và ABTS (B). Các cột mang các chữ cái khác nhau ($^{a, b, c, d,...}$) trong cùng một chỉ tiêu biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến khả năng thu nhận polyphenol tổng

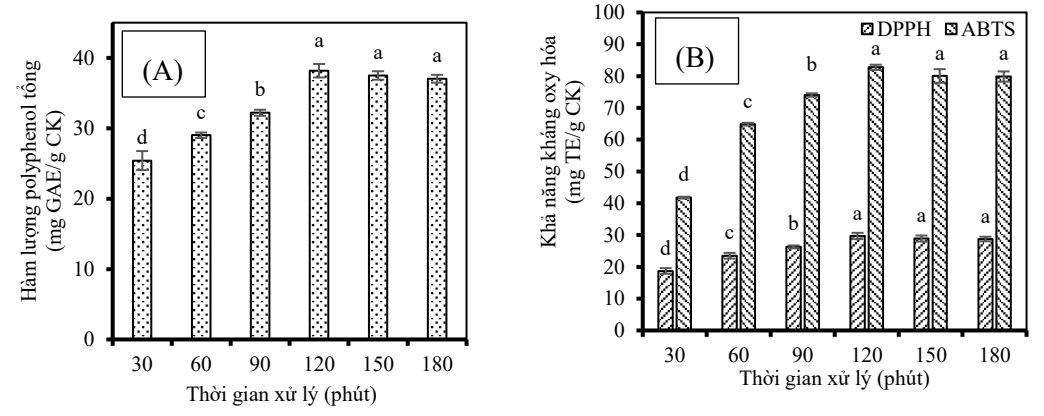
Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi cũng là một yếu tố quan trọng trong trích ly, do nó ảnh hưởng đến khả năng hòa tan các chất mục tiêu. Hình 3A cho thấy tại tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/10 (w/v), hàm lượng polyphenol tổng đạt 11,74 ± 0,91 mg GAE/g CK. Hàm lượng polyphenol tổng tiếp tục tăng và đạt cao nhất khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tiếp tục tăng đến giá trị 1/40 (w/v), cao gấp 2,53 lần so với tỷ lệ 1/10 (w/v). Tuy nhiên, nếu tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tiếp tục tăng lên đến 1/70 (w/v) thì hàm lượng polyphenol tổng có xu hướng giảm còn 21,83 ± 0,54 mg GAE/g CK. Cùng quy luật với hàm lượng polyphenol tổng, hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS đạt cao nhất tại tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/40 (w/v). Lúc đó, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và theo ABTS có giá trị là 23,35 ± 0,58 mg TE/g CK và 64,44 ± 0,99 mg TE/g CK (Hình 3B). Điều này có thể được giải thích là vì tỷ lệ nguyên liệu/dung môi cao làm tăng gradient nồng độ, giúp tăng tốc độ khuếch tán các phân tử vào dung môi, từ đó giúp tăng hiệu quả trích ly. Nhưng khi đạt trạng thái cân bằng, dung môi sẽ bị bão hòa làm hạn chế việc chiết xuất chất mục tiêu [14], [15]. Kết quả nghiên cứu trên có cùng quy luật với nghiên cứu của Pal và cộng sự [13] khi dùng dung môi eutectic sâu tự nhiên để trích ly TPC ở vỏ hành tây, hàm lượng TPC tăng mạnh ở tỷ lệ 1/10 (w/v) đến 1/50 (w/v) và có xu hướng giảm từ tỷ lệ 1/60 (w/v).



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi DES đến hàm lượng polyphenol tổng (A), khả năng kháng oxy hóa DPPH và ABTS (B). Các cột mang các chữ cái khác nhau ($^{a, b, c, d,\ldots}$) trong cùng một chỉ tiêu biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian xử lý đến khả năng thu nhận polyphenol tổng

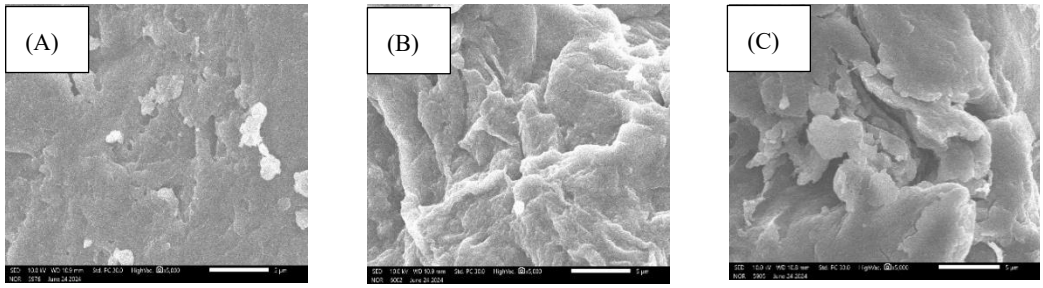
Thời gian xử lý là một yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến khả năng thu nhận polyphenol bằng dung môi vì thời gian chiết thích hợp giúp tiết kiệm thời gian và chi phí. Hình 4 cho thấy sự gia tăng hàm lượng polyphenol tổng khi thời gian xử lý tăng từ 30 phút đến 180 phút. Hàm lượng polyphenol tổng đạt cao nhất tại 120 phút với 38,57 ± 0,33 mg GAE/g CK (tăng 1,52 lần so với mẫu xử lý 30 phút) (Hình 4A). Khi thời gian xử lý tiếp tục tăng, hàm lượng TPC có xu hướng đạt trạng thái cân bằng. Tại nghiệm thức thời gian xử lý 180 phút, hàm lượng TPC đạt 37,03 ± 0,56 mg GAE/g CK không có sự khác biệt so với nghiệm thức 120 phút ($p > 0,05$). Tương tự, khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH và ABTS cũng đạt cao nhất tại thời gian xử lý là 120 phút (29,71 ± 0,99 mg TE/g CK theo DPPH và 82,74 ± 0,83 mg TE/g CK theo ABTS) (Hình 4B). Điều này được giải thích là do sau một thời gian trích ly nồng độ chất tan sẽ đạt trạng thái cân bằng giữa nguyên liệu và dung môi. Chính vì thế, thời gian xử lý quá dài là không hữu ích do không thể chiết xuất thêm hợp chất polyphenol [16]. Kết quả nghiên cứu trên có cùng quy luật với nghiên cứu của Pal và cộng sự [13] cũng như Ozturk và cộng sự [14], hàm lượng TPC tăng khi tăng thời gian chiết TPC trong vỏ hành tây và vỏ cam bằng dung môi eutectic sâu tự nhiên. Hàm lượng TPC đạt cao nhất ở 120 phút và có xu hướng giảm khi tăng thêm thời gian chiết. Các tác giả khác cũng nhận thấy khi quá trình chiết xuất quá dài cũng có khả năng giảm hàm lượng polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa do các tác động của môi trường như ánh sáng, không khí và nhiệt độ [14], [17].



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian xử lý đến hàm lượng polyphenol tổng (A), khả năng kháng oxy hóa DPPH và ABTS (B). Các cột mang các chữ cái khác nhau ($^{a, b, c, d,\ldots}$) trong cùng một chỉ tiêu biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức $p < 0,05$.

3.5. Đánh giá và so sánh hiệu quả trích ly polyphenol bằng DES và ethanol

DES ChCl/LA cho hiệu quả trích ly polyphenol, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS cao hơn so với dung môi ethanol 70%. Kết quả thu được hàm lượng TPC, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS bằng dung môi ethanol 70% (tại tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/40 (w/v), trong 120 phút) lần lượt là 5,68±0,22 mg GAE/g CK, 18,68±0,44 µg Trolox/g và 19,43±0,36 µg Trolox/g. Các giá trị này thấp hơn so với phương pháp trích ly bằng ChCl/LA (tỷ lệ mol 1:2 với 30% nước bổ sung, tại tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/40 (w/v) trong 120 phút) lần lượt là 6,8, 1,6 và 4,3 lần. Hình 4 thể hiện sự thay đổi cấu trúc bề mặt thông qua ảnh SEM ở độ phóng đại 5.000 lần của bột vỏ hồng nguyên liệu (Hình 4A), bã vỏ hồng sau khi trích ly với ethanol 70% (Hình 4B) và bã vỏ hồng sau trích ly với DES ChCl/LA (Hình 4C). Mẫu nguyên liệu cho thấy bột vỏ hồng có cấu trúc rất đặc trưng với dạng vảy lớn, phẳng, xếp chồng lên nhau. Đối với mẫu vỏ sau khi trích ly với ethanol, bề mặt của vỏ đã xuất hiện nhiều nếp nhăn lồi lõm. Đối với mẫu sau khi trích ly bằng ChCl/LA, bề mặt xuất hiện nhiều vết nứt, có nhiều lỗ hổng. Điều này chứng minh ChCl/LA có khả năng phân tách các tế bào cellulose bởi các liên kết hiđrô [14], nhờ đó tạo điều kiện cho các chất chiết dễ dàng đi ra khỏi tế bào hơn.



Hình 5. Kết quả chụp SEM của mẫu vỏ hồng nguyên liệu (A), mẫu trích ly bằng ethanol (B) và mẫu trích ly bằng DES ChCl/LA (C). Hình ảnh được chụp với điện thế 5 kV và độ phóng đại 5.000 lần.

4. KẾT LUẬN

Dung môi eutectic sâu là một hướng nghiên cứu còn tương đối mới nhưng đã cho thấy nhiều ưu điểm như hiệu suất trích ly tốt, thân thiện với môi trường, ít độc hại. Nghiên cứu này đưa ra một hướng phát triển cho việc xử lý vỏ hồng bằng việc ứng dụng DES vào trích ly polyphenol từ vỏ quả hồng. Trong nghiên cứu này, vỏ hồng được trích ly với dung môi DES được cấu tạo từ ChCl và acid lactic theo tỷ lệ mol 1:2, bổ sung 30% nước, trích ly ở 60°C trong 120 phút và tỷ lệ nguyên liệu dung môi là 1/40 (w/v) cho hiệu suất cao với hàm lượng TPC, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và ABTS cao hơn so với phương pháp chiết bằng ethanol 70% lần lượt là 6,8, 1,6 và 4,3 lần. Dung môi eutectic sâu hứa hẹn tiềm năng trong thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học từ vỏ hồng và các nguyên liệu thực vật.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện với sự bảo trợ và hỗ trợ kinh phí từ Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh theo Hợp đồng số 22/HD-DCT, ký ngày 09 tháng 01 năm 2024.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] S. Yaqub *et al.*, "Chemistry and Functionality of Bioactive Compounds Present in Persimmon," *J. Chem.*, vol. 2016, pp. 1–13, 2016, https://doi.org/10.1155/2016/3424025

[2] A. P. George and S. Redpath, "Health and Medicinal Benefits of Persimmon Fruit: A Review," *Adv. Hortic. Sci.*, vol. 22, no. 4, pp. 244–249, 2008.

[3] M. D'Archivio, C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, and R. Masella, "Polyphenols, dietary sources and bioavailability," *Ann. Ist. Super. Sanita*, vol. 43, no. 4, pp. 348–61, 2007.

[4] B. M. Popovic *et al.*, "Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents – Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction," *Food Chem.*, vol. 366, p. 130562, Jan. 2022, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130562

[5] N. Dabetić, V. Todorović, M. Panić, I. Radojčić Redovniković, and S. Šobajić, "Impact of Deep Eutectic Solvents on Extraction of Polyphenols from Grape Seeds and Skin," *Applied Sciences*, vol. 10, no. 14, p. 4830, Jul. 2020, https://doi.org/10.3390/app10144830

[6] P. Denev and A. Yordanov, "Total polyphenol, proanthocyanidin and flavonoid content, carbohydrate composition and antioxidant activity of Persimmon (Diospyros kaki L.) fruit in relation to cultivar and maturity stage," *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, vol. 19, pp. 981–988, 2013.

[7] T. Payum, Das A. K., Shankar R., Tamuly C., and Hazarika M., "Antioxidant potential of Solanum spirale shoot and berry: a Medicinal food plant used in Arunachal Pradesh," *International Journal of Pharm Tech Research*, vol. 5, no. 4, pp. 307–314, 2015.

[8] Y. Elouafy *et al.*, "Bioactivity of walnut: Investigating the triterpenoid saponin extracts of Juglans regia kernels for antioxidant, anti-diabetic, and antimicrobial properties," *Progress in Microbes & Molecular Biology*, vol. 6, no. 1, p. a0000325, 2023.

[9] N. Alsaud, K. Shahbaz, and M. Farid, "Application of deep eutectic solvents in the extraction of polyphenolic antioxidants from New Zealand Manuka leaves (Leptospermum Scoparium): Optimization and antioxidant activity," *J. Mol. Liq.*, vol. 337, p. 116385, Sep. 2021, https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116385

[10] T. Negi *et al.*, "Deep eutectic solvents: Preparation, properties, and food applications," *Heliyon*, vol. 10, no. 7, p. e28784, Apr. 2024, https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28784

[11] F. Mohd Fuad, M. Mohd Nadzir, and A. Harun@Kamaruddin, "Hydrophilic natural deep eutectic solvent : A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds," *J. Mol. Liq.*, vol. 339, p. 116923, Oct. 2021, https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116923

[12] M. Vilková, J. Płotka-Wasylka, and V. Andruch, "The role of water in deep eutectic solvent-base extraction," *J. Mol. Liq.*, vol. 304, p. 112747, Apr. 2020, https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747

[13] C. B. T. Pal and G. C. Jadeja, "Deep eutectic solvent-based extraction of polyphenolic antioxidants from onion (<scp> *Allium cepa* </scp> L.) peel," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 99, no. 4, pp. 1969–1979, Mar. 2019, https://doi.org/10.1002/jsfa.9395

[14] B. Ozturk, C. Parkinson, and M. Gonzalez-Miquel, "Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents," *Sep. Purif. Technol.*, vol. 206, pp. 1–13, Nov. 2018, https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.05.052

[15] Wong B.Y., Tan C., and Chun Wai H., "Effect of solid-to-solvent ratio on phenolic content and antioxidant capacities of Dukung Anak (Phyllanthus niruri)," *Int. Food Res. J.*, vol. 20, no. 1, pp. 325–330, 2013.

[16] E. Silva, H. Rogez, and Y. Larondelle, "Optimization of extraction of phenolics from Inga edulis leaves using response surface methodology," *Sep. Purif. Technol.*, vol. 55, no. 3, pp. 381–387, Jul. 2007, https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.01.008

[17] T. Juntachote, E. Berghofer, F. Bauer, and S. Siebenhandl, "The application of response surface methodology to the production of phenolic extracts of lemon grass, galangal, holy basil and rosemary," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 41, no. 2, pp. 121–133, Feb. 2006, https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00987.x

ABSTRACT

EXTRACTION OF TOTAL POLYPHENOLS FROM PERSIMMON PEEL USING DEEP EUTECTIC SOLVENTS

Huynh Thi Le Dung[1], Nguyen Hoang Truc[1], Tieu Trong Tin[1], Nguyen Duong Thien Tu[1], Huynh Le Thanh Ngan[1], Phan Van Man[2], Tran Chi Hai[1]*

[1]*Faculty of Food Science and Technology,*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, Viet Nam

[2]*Faculty of Tourism, Ba Ria–Vung Tau College of Technology, Viet Nam*

*Email: *haitc@huit.edu.vn*

Polyphenols are naturally occurring bioactive compounds renowned for their strong antioxidant properties, making them highly valuable in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. In this study, we investigated the efficiency of deep eutectic solvents (DESs) for extracting polyphenols from persimmon peel (*Diospyros kaki L.*), aiming to enhance both yield and antioxidant activity while promoting a greener alternative to traditional solvents. Our findings identified choline chloride/lactic acid (ChCl/LA) with 30% water content as the optimal DES formulation. Under the optimized conditions, a material-to-solvent ratio of 1:40 (w/v) and an extraction time of 120 minutes, the total polyphenol content and antioxidant capacity, assessed through DPPH and ABTS assays, were significantly enhanced. Compared to extraction with 70% ethanol, polyphenol yield increased by 6.8 times, while antioxidant activity was 1.6 and 4.3 times higher for DPPH and ABTS, respectively. Microscopic analysis of DES-treated persimmon peel revealed the presence of structural modifications, such as the formation of cracks and pores, which likely facilitated solvent penetration and improved mass transfer efficiency. These results underscore the potential of DESs as a sustainable and efficient alternative for polyphenol extraction, offering an eco-friendly solution for valorizing plant-based bioactive compounds.

Keywords: Antioxidant activity, deep eutectic solvent, extraction, persimmon peel, polyphenols.