

## ẢNH HƯỞNG CỦA DUNG MÔI VÀ pH ĐẾN QUÁ TRÌNH TRÍCH LY CÁC HỢP CHẤT CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA TỪ TÍA TÔ (*Perilla frutescens*)

Nguyễn Thị Ngọc Thúy\*, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trương Quang Duy,  
Phan Huỳnh Thúy Nga, Cao Thị Cẩm Tú

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

\*Email: [thuyntn@cntp.edu.vn](mailto:thuyntn@cntp.edu.vn)

Ngày gửi bài: 04/5/2017; Ngày chấp nhận đăng: 07/3/2018

### TÓM TẮT

Dung môi và pH trích ly là 2 yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hòa tan và độ bền của các hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa, đại diện là hai nhóm polyphenol và flavonoid. Kết quả thực nghiệm trích ly các hoạt chất từ tía tô bằng phương pháp ngâm chiết cho thấy dung môi thích hợp là ethanol ở nồng độ 60% với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/35 (w/v) trong điều kiện trích ly tốt nhất là pH 3. Tía tô sau khi được xử lý sơ bộ, lấy phần lá tiến hành sấy bằng không khí nóng ở 70 °C trong 3 giờ, xay nhỏ, sàng qua rây d = 0,2 cm, lấy phần qua rây, đóng gói chân không và trữ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối để tiến hành nghiên cứu trích ly. Dịch chiết thu nhận ở điều kiện tối ưu có hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng kháng oxy hóa lần lượt là  $0,781 \pm 0,005$  g acid gallic/100 g chất khô;  $0,308 \pm 0,001$  g quercetin/100 g chất khô;  $125,091 \pm 0,211$  mg vitamin C/L.

*Từ khóa:* Tía tô, *Perilla frutescens*, kháng oxy hóa, polyphenol, flavonoids.

### 1. MỞ ĐẦU

Tía tô (*Perilla frutescens* L. Britt) là loài thân thảo phổ biến ở các quốc gia vùng nhiệt đới: Nhật Bản, Trung Quốc, Việt Nam,... Tía tô được dùng trong nhiều bài thuốc dân gian chữa các loại bệnh như mẩn ngứa, ho có đờm, viêm phế quản, đau bụng, đầy chướng, bệnh gút cấp tính,... Đồng thời, theo kết quả nghiên cứu của Mohammad Asif (2011), Norihiro Banno *et al.*(2004), Noami Oskabe *et al.*(2004) đã cho thấy, trong tía tô có sự hiện diện một lượng đáng kể và đa dạng các hợp chất kháng oxy hóa, chúng giữ vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa các bệnh gây ra bởi các gốc tự do như lão hóa, ung thư, viêm da [1-3]. Khi so sánh với các hợp chất kháng oxy hóa tổng hợp, các hợp chất kháng oxy hóa chiết xuất từ các loại thảo mộc cho lợi ích hơn cả bởi vì chúng ít gây ra tác dụng phụ cho người sử dụng.

Ngày nay, nghiên cứu thu nhận các thành phần có hoạt tính sinh học từ rau quả để bổ sung vào thực phẩm đang là xu hướng nhằm tăng giá trị dinh dưỡng của thực phẩm, kéo dài thời gian bảo quản cũng như tăng khả năng điều trị một số bệnh lý. Do đó, nghiên cứu thu nhận các thành phần có hoạt tính sinh học từ tía tô để ứng dụng trong thực phẩm nhằm đáp ứng xu hướng này.

Nghiên cứu này tìm ra loại dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và giá trị pH thích hợp nhằm trích ly các hợp chất polyphenol và flavonoids, tạo ra dịch chiết có thể sử dụng trực tiếp hoặc tạo tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng hợp chất kháng oxy hóa từ tía tô vào các sản phẩm thực phẩm, không những góp phần làm đa dạng hóa các sản phẩm từ tía tô mà

còn nâng cao giá trị của chúng đối với sức khỏe con người. Quá trình nghiên cứu thực nghiệm đã kê thừa một số kết quả do chính nhóm tác giả thực hiện “Nghiên cứu thu nhận hợp chất có tính kháng oxy hóa từ tía tô (*Perilla frutescens*) và húng quế (*Ocimum basilicum*)” thuộc đề tài cấp trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.Hồ Chí Minh: quá trình xử lý nguyên liệu, sấy lá tía tô bằng không khí nóng ở 70 °C trong 3 giờ với độ ẩm 5,31%.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Tía tô (*Perilla frutescens*) được trồng tại huyện Củ Chi, Tp.HCM, thu hoạch vào tháng 2 và tháng 3/2017.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Khảo sát nguyên liệu

Nguyên liệu tươi sau khi thu hái được sơ chế và lựa chọn những cây không sâu bệnh, không dập nát. Từng phần thân, lá được phân tách, rửa sơ bộ với nước sạch, để ráo tự nhiên và tiến hành khảo sát các chỉ tiêu như: độ ẩm, hàm lượng tro, tỷ lệ thân/lá, hàm lượng tổng phenolic (TPC), hàm lượng tổng flavonoid (TFC).

#### 2.2.2. Phương pháp xử lý nguyên liệu:

Phần được sử dụng trên cây tía tô ở thí nghiệm 2.2.1 được rửa sơ bộ với nước sạch, để ráo tự nhiên, tiến hành sấy bằng không khí nóng ở 70 °C trong 3 giờ nhằm giảm độ ẩm của mẫu nhỏ hơn 7,5% [4]. Sau đó, xay nhỏ, sàng qua rây có  $d = 0,2$  cm, lấy phần qua rây, đóng gói chân không, bảo quản ở nhiệt độ phòng trong bóng tối chuẩn bị cho kế hoạch thực nghiệm.

#### 2.2.3. Phương pháp thực nghiệm

##### 2.2.3.1. Lựa chọn loại dung môi

Tiến hành trích ly với các loại dung môi gồm nước cất, ethanol 99,7% (w/w) (EtOH), methanol 99,5% (w/w) (MeOH) bằng phương pháp ngâm chiết với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/25 (w/v), nhiệt độ trích ly 50 °C trong 1 giờ [5]. Kết quả xác định loại dung môi phù hợp trên cơ sở đánh giá TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa của mẫu dịch chiết.

##### 2.2.3.2. Khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

Tiến hành trích ly ngâm chiết với dung môi tối ưu tại thí nghiệm 2.2.3.1 ở các tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/20, 1/25, 1/30, 1/35, 1/40 (w/v), nhiệt độ trích ly 50 °C trong 1 giờ [5]. Kết quả xác định tỷ lệ nguyên liệu/dung môi phù hợp trên cơ sở đánh giá TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa của mẫu dịch chiết.

##### 2.2.3.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của pH

Điều chỉnh pH của dung môi tối ưu tại thí nghiệm 2.2.3.1 bằng dung dịch acid citric 5% về các giá trị pH 2; 2,5; 3; 3,5; 4. Sau đó, cho hỗn hợp dung môi vào tiến hành trích ly ngâm chiết ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tối ưu tại thí nghiệm 2.2.3.2, nhiệt độ trích ly là 50 °C trong 1 giờ [5]. Kết quả xác định pH phù hợp trên cơ sở đánh giá TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa của mẫu dịch chiết.

#### 2.2.4. Phương pháp phân tích

Độ ẩm: sử dụng cân sấy ẩm hồng ngoại.

Độ tro: xác định bằng phương pháp vô cơ hóa mẫu.

Tỷ lệ thân/lá: dùng cân phân tích 4 số lẻ.

Xác định hàm lượng polyphenol tổng (TPC) theo phương pháp Folin-Ciocalteu [4]: Lấy 1 mL dịch mẫu bổ sung 5 mL Folin-Ciocalteu pha loãng 10 lần và 4 mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%. Sau đó, đậy nắp, trộn, để yên ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, tiến hành đo quang tại bước sóng 765 nm. Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn. Kết quả được tính theo đơn vị g đương lượng acid gallic (GAE)/100 g chất khô (CK).

Xác định hàm lượng flavonoid tổng (TFC) theo phương pháp so màu, dựa vào sự chuyển màu của  $\text{AlCl}_3$  [6]: 1 mL dịch chiết của mẫu được pha loãng với 4 mL nước trong một bình định mức 10 mL. Thêm vào 0,3 mL  $\text{NaNO}_2$  5%, sau 5 phút thêm vào 0,3 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, sau 6 phút thêm 2 mL  $\text{NaOH}$  1 M. Sau đó, thêm 2,4 mL nước vào bình phản ứng và trộn đều, tiến hành đo quang tại bước sóng 510 nm. Kết quả được tính theo đơn vị g đương lượng quercetin (QE)/100 g chất khô (CK).

Khả năng kháng oxy hóa của các mẫu dịch chiết thí nghiệm được xác định theo phương pháp của Kai *et al.* (2007) [7]: lấy 0,15 mL dung dịch mẫu cần xác định cho vào ống nghiệm đã bịt kín bằng giấy bạc, bổ sung 2,85 mL dung dịch thuốc thử DPPH, lắc đều và ủ trong tối 30 phút. Đo mật độ quang tại bước sóng 517 nm. Sử dụng chất chuẩn là vitamin C. Kết quả được tính theo đơn vị mg vitamin C/L.

#### 2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu thực nghiệm

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVII (StatPoint, Inc., USA). Kiểm định Tukey HSD được sử dụng sau phân tích Anova để xác định sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,05$ . Hình vẽ được thực hiện trên công cụ Excel (Office 2010, Microsoft Corp., USA).

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả xác định thành phần nguyên liệu

Tiến hành thí nghiệm với 10 mẫu tía tô đại diện lấy kết quả trung bình.

Bảng 1. Tỷ lệ thành phần và một số chỉ tiêu của nguyên liệu

Chi tiêu	Lá	Thân
Tỷ lệ (%) *	48,98 ± 2,74	51,02 ± 2,74
Độ ẩm (%)*	79,94 ± 2,46	85,11 ± 1,80
TPC (g GAE/100 g CK)**	0,729 ± 0,25	0,138 ± 0,02
TFC (g QE/100 g CK)**	0,178 ± 0,01	0,056 ± 0,02

(\*Giá trị trung bình ± SD, với  $n=10$ , (\*\*)Giá trị trung bình ± SD, với  $n=3$

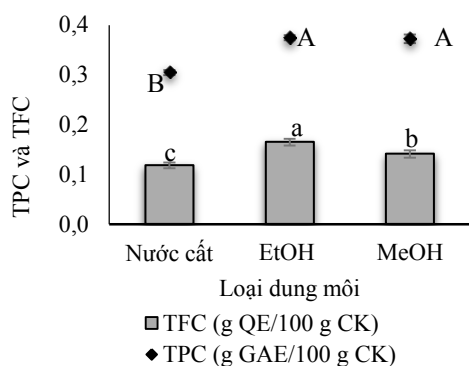
Kết quả khảo sát ở Bảng 1 cho thấy hàm lượng nước trong thân và lá của hai loại nguyên liệu rất cao. Đồng thời, trong sản xuất nếu hàm lượng nước trong nguyên liệu quá cao sẽ làm kéo dài thời gian sấy. Do đó, tỷ lệ thân và lá tía tô sẽ quyết định chế độ sấy nguyên liệu sau này. Tỷ lệ này thường không ổn định và dễ bị thay đổi theo độ tuổi của cây (cây càng già, lá càng ít dần), thời tiết, thổ nhưỡng... Ứng với từng trường hợp cụ thể sẽ có

chế độ sấy tương ứng. Ngoài ra, TPC và TFC của lá đều cao hơn thân. Do đó, nghiên cứu này sử dụng phần lá tía tô để tiến hành thí nghiệm.

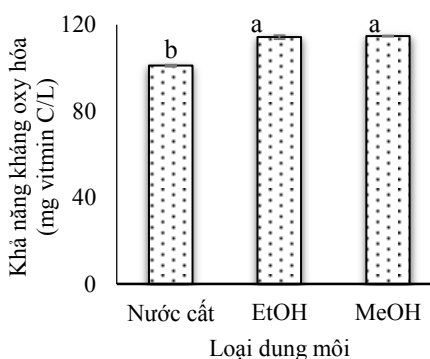
Hàm lượng flavonoid trong mẫu lá tía tô cao hơn nấm linh chi Hàn Quốc (0,058 mg quercetin/g) [8] nhưng thấp hơn cỏ xạ hương (2,91 mg/g) và lá rau diếp (2,51 mg CE/g) [9]. Tổng phenolic từ mẫu lá tía tô cao hơn cỏ xạ hương (5,30 mg GAE/g) và cây kinh giới tây (5,80 mg/g) [9], đậu nành (2,61 mg GAE/g) và cao lá rau diếp (3,47 mg GAE/g) [9, 10]. Như vậy, nghiên cứu trích ly hợp chất kháng oxy hóa (đặc biệt là các hợp chất polyphenol) từ lá tía tô là có cơ sở khoa học.

### 3.2. Kết quả khảo sát loại dung môi và nồng độ dung môi

Hiệu quả chiết polyphenol từ nguyên liệu thực vật phụ thuộc vào loại dung môi sử dụng, đặc biệt độ phân cực của dung môi [11]. Do đó, quá trình khảo sát phương pháp trích ly tía tô được thực hiện trên 3 loại dung môi khác nhau gồm nước cất, EtOH, MeOH với điều kiện trích ly được trình bày ở mục 2.2.3.1. Kết quả về sự ảnh hưởng khác biệt giữa các dung môi đến TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa được thể hiện ở Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Ảnh hưởng loại dung môi lên TPC, TFC của dịch chiết



Hình 2. Ảnh hưởng loại dung môi lên khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết

A, B, a, b, c: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy  $p \leq 0,05$ .

Kết quả xử lý thống kê với mức ý nghĩa 5% cho thấy dung môi EtOH có ảnh hưởng đến khả năng thu nhận các hợp chất có tính kháng oxy hóa.

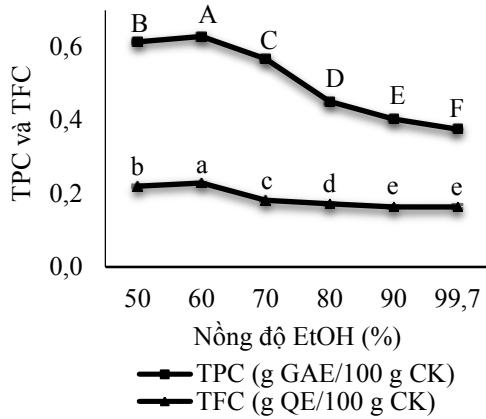
Hình 1 cho thấy dịch chiết nước cất cho kết quả TPC và TFC thấp nhất. Ở dịch chiết EtOH, hàm lượng polyphenol đạt  $0,375 \pm 0,005$  g GA/100 g CK, tương ứng với  $0,372 \pm 0,009$  g GAE/100 g CK so với dịch chiết MeOH, tuy nhiên phân tích Anova thì không có sự khác biệt giữa 2 mẫu này ( $p = 0,0000$ ). Tương tự, giá trị TFC của dịch chiết nước cất thấp nhất và cao nhất là ethanol ( $0,165 \pm 0,007$  g QE/100 g CK). Điều này là do EtOH có tác dụng biến tính nhanh chóng, phá hủy màng tế bào lá, tạo điều kiện thuận lợi cho việc xâm nhập, tiếp xúc với các hoạt chất kháng oxy hóa khác nên cho hiệu quả chiết cao hơn nước và MeOH [12].

Hình 2 cho thấy khả năng kháng oxy hóa tổng của các dịch chiết theo thứ tự như sau: cao nhất là MeOH ( $114,694 \pm 0,272$  mg vitamin C/L), nhỏ hơn là EtOH ( $114,186 \pm 0,842$  mg vitamin C/L) và thấp nhất là nước cất ( $101,053 \pm 0,429$  mg vitamin C/L). Phân tích Anova cho thấy không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê giữa dịch chiết EtOH và MeOH ở  $p = 0,0000$ .

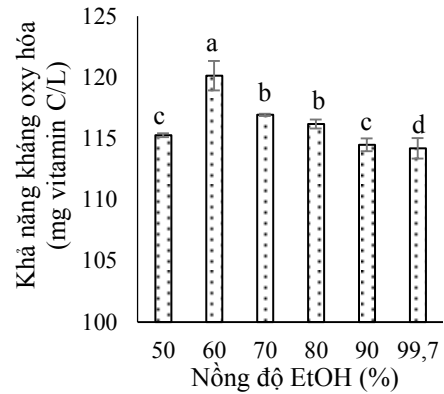
Do đó, mục tiêu là tối ưu khả năng thu nhận hợp chất có tính kháng oxy hóa cũng như chọn dung môi an toàn cho việc ứng dụng trong thực phẩm sau này, ethanol là dung môi được chọn để tiến hành trích ly. Tuy nhiên, nồng độ ethanol khác nhau thì mức độ hòa tan

các hợp chất sẽ khác nhau. Vì vậy, khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ ethanol lên khả năng thu nhận hợp chất có tính kháng oxy hóa được thực hiện.

Kết quả thể hiện ở Hình 3 và Hình 4.



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ EtOH lên TPC, TFC của dịch chiết



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ EtOH lên khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết

A, B, C, ... a, b, c, ...: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy  $p \leq 0,05$ .

Mức độ phân cực của dung môi tùy thuộc vào hằng số điện môi, giá trị liên kết hydro [13], trong đó, nước có hằng số điện môi, giá trị liên kết hydro cao hơn ethanol. Do đó, khi trộn lẫn ethanol và nước sẽ cho các hỗn hợp ethanol - nước có mức độ phân cực khác nhau.

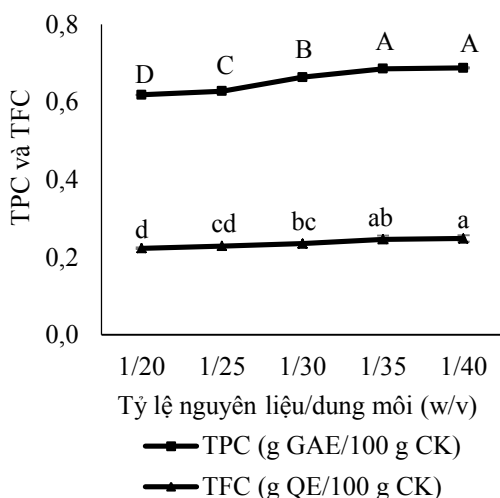
Kết quả ở Hình 3 cho thấy TPC của mẫu ethanol 60% cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mẫu còn lại. Điều này có thể giải thích bởi polyphenol trong tía tô là có chứa nhiều nhóm hydroxyl linh động nhưng vì có cấu trúc phân tử lớn nên độ phân cực của chúng gần xấp xỉ độ phân cực của ethanol và ở nồng độ ethanol 60% có độ phân cực tương đương với độ phân cực của polyphenol nên chúng hòa tan tốt hơn [12].

Đối với TFC, nồng độ ethanol 60% cũng cho kết quả cao nhất, chứng tỏ rằng thành phần flavonoid trong tía tô cũng bị ảnh hưởng bởi mức độ phân cực của dung môi.

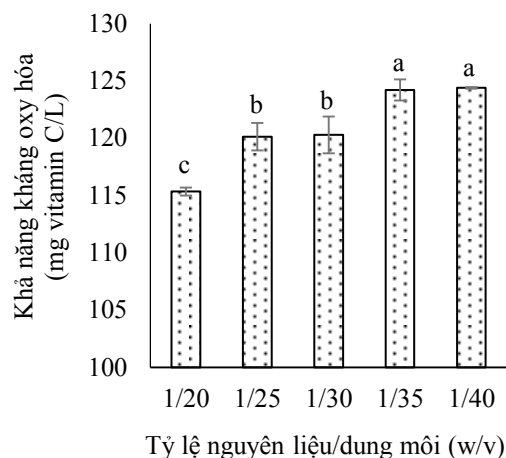
Xét khả năng kháng oxy hóa được thể hiện ở Hình 4 thấy rằng mẫu ethanol 60% cho kết quả cao nhất ( $120,128 \pm 1,202$  mg vitamin C/L) và thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với các mẫu còn lại. Với mục tiêu là tối ưu khả năng thu nhận hợp chất có tính kháng oxy hóa, ethanol 60% là dung môi được lựa chọn để tiến hành trích ly, tương ứng với hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng đạt được là  $0,628$  g GAE/100 g CK và  $0,229 \pm 0,001$  g QE/100 g CK.

### 3.3. Kết quả khảo sát tỷ lệ nguyên liệu/dung môi

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly. Lượng dung môi tối thiểu phải vừa ngập qua bề mặt của lớp nguyên liệu khoảng lớn hơn 1 cm, khi đó các lớp nguyên liệu trên mới có thể tiếp xúc được với dung môi. Do đó, ở nghiên cứu này, các tỷ lệ khảo sát là 1/20, 1/25, 1/30, 1/35, 1/40 (w/v). Các dịch chiết sau khi thu nhận được tiến hành xác định khả năng kháng oxy hóa (mỗi tỷ lệ được lặp lại 3 lần). Kết quả thể hiện qua Hình 5 và Hình 6.



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên TPC, TFC của dịch chiết



Hình 6. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi lên khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết

A, B, C, ... a, b, c, ...: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy  $p \leq 0,05$ .

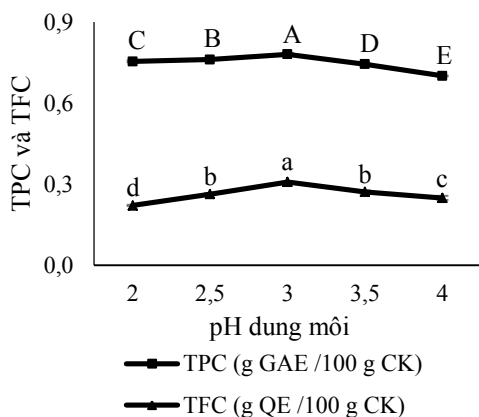
Kết quả nghiên cứu ở Hình 5 cho thấy, hàm lượng polyphenol và flavonoid tăng dần khi tăng lượng dung môi, và lượng polyphenol và flavonoid thu được nhiều nhất ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/35 (w/v), khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì lượng polyphenol và flavonoid thu được không tăng lên mà có xu hướng tiệm cận ngang. Nguyên nhân của sự thay đổi trên là do khi lượng dung môi quá ít (ở tỷ lệ 1/20) không đủ để hòa tan, trích ly hết lượng polyphenol và flavonoid ra khỏi tế bào. Do đó, khi tiếp tục tăng lượng dung môi thì hàm lượng polyphenol và flavonoid thu được có sự tăng mạnh. Tuy nhiên, khi ngâm chiết với lượng dung môi quá nhiều, trong khi hàm lượng polyphenol của nguyên liệu là một số cố định nên sẽ nhanh chóng dẫn đến sự cân bằng giữa các pha, làm hiệu quả trích ly polyphenol không tăng [14]. Điều này cũng được giải thích tương tự bởi nhóm tác giả Dương Thị Phương Liên và ctv (2014), khi tỷ lệ dung môi cao có thể thúc đẩy một gradient nồng độ càng tăng, dẫn đến tốc độ khuếch tán cho phép quá trình trích ly chất rắn bằng dung môi được tốt hơn [10].

Đánh giá khả năng kháng oxy hóa thấy rằng, độ dao động nằm trong khoảng từ  $115,345 \pm 0,343$  mg vitamin C/L đến  $124,394 \pm 0,074$  mg vitamin C/L. Khả năng kháng oxy hóa cao nhất lại ở tỷ lệ 1/35 (w/v), thấp nhất ở tỷ lệ 1/20 (w/v). Phân tích Anova cho thấy giá trị  $p = 0,0000$ , đồng nghĩa là hàm lượng polyphenol, flavonoid có sự tương quan mạnh mẽ với hoạt tính kháng oxy hóa. Từ đó thấy rằng, kết quả nghiên cứu là phù hợp với lý thuyết. So sánh với các nghiên cứu trước đây cho thấy, mỗi đối tượng đều phải sử dụng một tỷ lệ nguyên liệu/dung môi khác nhau như: nghiên cứu thu nhận polyphenol và alkaloids từ lá trà của tác giả Fui-Seung Chin *et al.*(2013) [15] cho thấy dung môi acetonitril 20% là tối ưu nhất; đối với các loại trái cây hoặc các bộ phận của cây từ Bồ Đào Nha cho thấy ethanol là dung môi thích hợp để trích ly polyphenol [16].

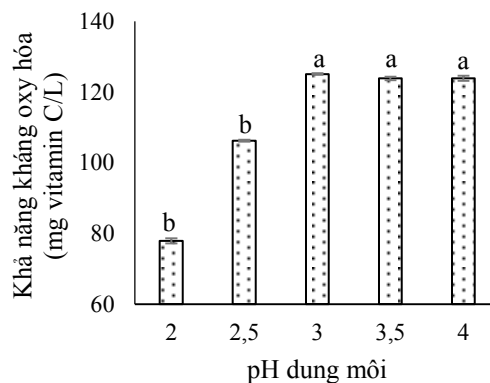
Do đó, với mục tiêu tối ưu khả năng thu nhận hai hợp chất có tính kháng oxy hóa là polyphenol và flavonoid, tiết kiệm chi phí dung môi thì tỷ lệ 1/35 (w/v) phù hợp nhất. Kết quả thực nghiệm đạt được các giá trị TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa tại thông số tối ưu lần lượt là  $0,686 \pm 0,002$  g GAE/100 g CK;  $0,246 \pm 0,01$  g QE/100 g CK và  $124,209 \pm 0,913$  mg vitamin C/L.

### 3.4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của pH

Hợp chất polyphenol và flavonoid là những chất chống oxy hóa mạnh nên dễ oxy hóa ở pH cao. pH thấp có thể ức chế quá trình oxy hóa các hợp chất polyphenol và hàm lượng thu được cao hơn. Ngoài ra, pH thấp một mặt làm bền các hợp chất anthocyanin, mặt khác kìm hãm sự hoạt động của enzyme polyphenol oxidase [17]. Bên cạnh đó, ethanol là dung môi phân cực protic, có khả năng kết hợp với các ion âm [13]. Do đó, giá trị pH từ 2 đến 4 với bước nhảy là 0,5 được chọn để khảo sát. Hình 7, 8 thể hiện sự ảnh hưởng của pH đến TPC, TFC và khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết.



Hình 7. Ảnh hưởng của pH dung môi lên TPC, TFC của dịch chiết



Hình 8. Ảnh hưởng của pH dung môi lên khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết

A, B, C, ... a, b, c, ...: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy  $p \leq 0,05$ .

Kết quả nghiên cứu cho thấy TPC, TFC thu được tăng dần khi pH tăng từ 2 đến 3, nhưng khi pH tăng đến 4 thì TPC, TFC có xu hướng giảm. Ở pH 3, hàm lượng polyphenol và flavonoid thu được đạt cực đại, tương đương  $0,781 \pm 0,005$  g GAE/100 g CK và  $0,308 \pm 0,001$  g QE/100 g CK (Hình 7). Tuy nhiên khả năng kháng oxy hóa lại có xu hướng ngược lại với cực tiểu ở pH 2. Khả năng kháng oxy hóa cao nhất ở pH 4, tương ứng  $124,394 \pm 0,70$  mg vitamin C/L (Hình 8). Điều này chứng tỏ lượng lớn acid phenolic đã được chiết ra bởi môi trường acid và chúng có tác dụng hỗ trợ cho các chất kháng oxy hóa khác như acid ascorbic [18, 19]. Đồng thời polyphenol phân cực mạnh càng không bền trong môi trường acid mạnh. Do đó, khả năng kháng oxy hóa tăng lên là do tăng hàm lượng acid phenolic và giảm hàm lượng polyphenol không bền trong acid. Phân tích Anova thấy giá trị giữa các dịch chiết có sự khác biệt có ý nghĩa. Điều này cũng có nghĩa là ngoài polyphenol có độ hấp thụ ở 765 nm còn có các acid phenolic (acid galic, hydroxytyrosol (3,4-DHPEA) và dẫn xuất của acid cinnamic (acid tartaric coumaroyl, acid caffeic và acid rosmarinic) tan trong môi trường acid [2]. Trong khi đó trích ly polyphenol ở giá trị pH acid đã được một số tác giả nghiên cứu ở các nguyên liệu khác đã được công bố trước đây [21-23].

Như vậy, dịch chiết ở pH 3 đạt giá trị TPC, TFC cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy  $\alpha = 95\%$ . Đây là giá trị pH thích hợp nhằm thu nhận hợp chất có tính kháng oxy hóa từ tía tô. Mẫu dịch chiết có hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng kháng oxy hóa lần lượt là  $0,781 \pm 0,005$  g GAE/100g CK;  $0,308 \pm 0,001$  g QE/100 g CK;  $125,091 \pm 0,211$  mg vitamin C/L.

#### 4. KẾT LUẬN

Điều kiện phù hợp để trích ly polyphenol và flavonoid từ lá tía tô như sau: sử dụng dung môi ethanol 60%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/35 (w/v), pH 3. Tại điều kiện này, polyphenol tương ứng  $0,781 \pm 0,005$  g GAE/100 g CK; flavonoid tương ứng  $0,308 \pm 0,001$  g QE/100 g CK và khả năng kháng oxy hóa đạt tương ứng  $125,091 \pm 0,211$  mg vitamin C/L.

Ngoài ra, hàm lượng polyphenol, flavonoids của dịch chiết cao hơn so với nguyên liệu tươi. Vì vậy, với điều kiện trích ly phù hợp, khả năng trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học tăng đáng kể và dịch chiết thu nhận được hoàn toàn phù hợp để ứng dụng trong thực phẩm, thực phẩm chức năng. Tía tô sẽ là nguồn cung cấp polyphenol, flavonoid dồi dào trong công nghiệp đồ uống.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mohammad A. - Phytochemical study of polyphenols in *Perilla Frutescens* as an antioxidant, *Avicenna Journal of Phytomedicine* **2** (2012) 169-178.
2. Nooman A. K., Ashok K. S., Atif A. O., Zaha E. A. and Husni F. - Antioxidant activity of some common plants, Faculty of Pharmacy and Medical Sciences, *Turkish Journal Biology* **32** (2008) 51-55.
3. Osakabe N., Yasuda A., Natsume M. and Yoshikawa T. - Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two – stage skin model, *Carcinogenesis* **25** (2004) 549-557.
4. TCVN 9745-1:2013, ISO 14502-1:2005.
5. Li Y., Gong J., Chan L., Wang Z., Wu Y., Gao Y. and Wu J. - Phytochemicals, nutritional analysis and in vitro antioxidant activities of pickled *Perilla frutescens* ethanolic leaf extract, *European Journal of Medicinal Plants* **4** (2014) 303-314.
6. Atanassova M., Georgieva S. and Ivancheva K. - Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* **46** (2011) 81-88.
7. Marxen K., Vanselow K. H., Lippemeier S., Hintze R., Ruser A., and Hansen U.P. - Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements, *Sensors* **7** (2007) 2080-2095.
8. Lê Trung Hiếu, Trương Thị Như Tâm, Nguyễn Thị Ánh Huyền và Lê Thuý Trang - Bước đầu nghiên cứu đánh giá khả năng kháng oxy hoá của một số đối tượng làm nguồn dược liệu, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường ĐH Khoa học Huế* **1** (1) (2014) 22-30.
9. Vabkova J., Neugebauerova J. - Nutritional parameters of selected culinary herbs (*Lamiaceae*), *Acta Agriculturae Serbica* **XV** (29) (2010) 77-82.
10. Dương Thị Phượng Liên, Phan Thị Bích Trâm và Hà Thanh Toàn - Ảnh hưởng quá trình trích ly đến hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa từ đậu nành, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Số chuyên đề: Nông nghiệp* **1** (2014) 8-15.
11. Lại Thị Ngọc Hà, Nguyễn Thị Na và Lê Thị Trang - Mô hình hóa quá trình chiết polyphenol từ quả sim thu hái tại Hòa Bình, *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm* **6** (3+4) (2010) 191-201.



12. Nguyễn Thị Thu Trang - Tối ưu hóa các điều kiện chiết tách EGCG và các hoạt chất kháng oxy hóa từ lá chè xanh, Kỷ yếu hội nghị “Sinh viên nghiên cứu khoa học”, Đà Nẵng (2009) 54-62.
13. Lê Ngọc Thạch - Sổ tay hóa hữu cơ, Nhà xuất bản Giáo dục, 1999.
14. Đặng Xuân Cường, Lê Tuấn Anh, Vũ Ngọc Bội và Bùi Minh Lý - Thu nhận polyphenol từ cây ngô, Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản **4** (2014) 16-21.
15. Chin F. S., Chong K. P., Atong, Markus and Wong N. K. - Tea polyphenols and alkaloids content using soxhlet and direct extraction methods, World Journal of Agricultural Sciences **9** (3) (2013) 266-270.
16. Koffi E., Sea T., Dodehe Y. and Soro S. - Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants, Journal of Animal & Plant Sciences **5** (3) (2010) 550-558.
17. Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư - Nghiên cứu trích ly polyphenol từ chè xanh vụn - Phần 1: Các yếu tố ảnh hưởng quá trình trích ly polyphenol, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **7** (1) (2009) 81-86.
18. Croft K. D. - The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids, Annals of the New York Academy of Sciences **854** (1998) 435-442.
19. Ruenroengklin N., Zhong J., Duan X., Yang B., Li J. and Jiang Y. - Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of phenolics from litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant activity of the extracted anthocyanins, International Journal of Molecular Sciences **9** (2008) 1333-1341.
20. Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. and Larondelle Y. - Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers, Separation and Purification Technology **55** (2007) 217-225.

## ABSTRACT

### EFFECT OF SOLVENT AND pH VALUE ON EXTRACT OF ANTIOXIDANT ACTIVITY COMPOUNDS FROM PERILLA (*Perilla frutescens*)

Nguyen Thi Ngoc Thuy\*, Nguyen Thi Thu Huyen, Truong Quang Duy,  
Phan Huynh Thuy Nga, Cao Thi Cam Tu  
Ho Chi Minh City University of Food Industry  
\*Email: thuyntn@cntp.edu.vn

Solvent and pH value are two factors that affect the solubility and durability of antioxidant compounds, such as polyphenols and flavonoids. The results show that extracting by leaching method with ethanol 60% and the rate of material/solvent is 1/35 (w/v) with pH value of 3. Perilla leaves were taken, then dried by hot air at 70 °C in 3 hours, minced, sieved with d = 0.2 cm, the sieved material was packed in vacuum and stored at room temperature in the dark. At the optimum conditions, results present the value of polyphenol, flavonoid and antioxidant ability are at  $0.781 \pm 0.005$  g acid gallic/100 g dry mass;  $0.308 \pm 0.001$  g quercetin/100 g dry mass and  $125.091 \pm 0.211$  mg vitamin C/L, respectively.

**Keywords:** Perilla, *Perilla frutescens*, antioxidant, polyphenol, flavonoids.