

# NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ ETHANOL VÀ TỶ LỆ DUNG MÔI/NGUYÊN LIỆU ĐẾN HÀM LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT SINH HỌC, CHẤT MÀU VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CỦA DỊCH TRÍCH LY TỪ HỖN HỢP NGẢI BÚN/NGHỆ/SẢ

Nguyễn Duy Tân<sup>1</sup>

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ethanol (0, 40, 60 và 80%) và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (15/1, 20/1, 25/1 và 30/1 mL/g) đến hàm lượng các hợp chất sinh học (phenolic, flavonoid, tannin và curcumin), chất màu (chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll tổng và carotenoids) và hoạt động chống oxy hóa của dịch trích ly thông qua chỉ số chống oxy hóa AAI (antioxidant ability index), khả năng khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) và khả năng khử sắt FRAP (ferric reducing antioxidant power). Kết quả nghiên cứu cho thấy điều kiện trích ly tối ưu là nồng độ ethanol 80% và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 25/1 mL/g. Tại điều kiện trích ly này, hàm lượng phenolic, flavonoid, tannin và curcumin thu được lần lượt là 148,63 mgGAE/100 g; 158,98 mgQE/100 g; 77,35 mgTAE/100 g và 20,28 mg/g FW. Hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll tổng và carotenoids là 5,85 mg/100 g; 12,93 mg/100 g; 18,78 mg/100 g và 71,47 mg/100 g FW. Hoạt động chống oxy hóa của dịch trích ly thông qua các đánh giá AAI, DPPH và FRAP lần lượt là 1,46; 88,05% và 31,16  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/g.

**Từ khóa:** *Chất màu, hỗn hợp nguyên liệu ngải bún/nghệ/sả, hợp chất sinh học, hoạt động chống oxy hóa, trích ly.*

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngải bún có tên khoa học *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schitr đôi khi còn được gọi là *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. và có tên tiếng Anh Lesser ginger, Fingerroot hay Chinese ginger; họ gừng Zingiberaceas; được sử dụng như phương thuốc truyền thống ở các nước Đông Nam Á để trị một số bệnh như dạ dày, miệng, đường hô hấp và các bệnh ngoài da. Tinh dầu của ngải bún có khả năng

ức chế vi khuẩn, nấm mốc, nấm men, kháng viêm và kháng ung thư. Ngoài ra, ngải bún là thành phần gia vị nổi trội trong nấu nướng món ăn của các quốc gia Châu Á. Dịch trích ly từ ngải bún có khả năng ức chế mạnh enzyme glucosidase và lipase tuyến tụy vì thế có thể điều khiển mức đường huyết sau khi ăn. Trong thành phần thân rễ ngải bún có chứa flavonoid và terpenoids có thể sử dụng trong việc trị bệnh béo phì [1].

<sup>1</sup>TS. Đại học An Giang  
Email: ndtan@agu.edu.vn

Ngày gửi bài: 1/8/2019  
Ngày phản biện đánh giá: 20/8/2019  
Ngày đăng bài: 30/9/2019

Nghệ có tên khoa học *Curcuma longa*, tên tiếng Anh Turmeric thuộc họ gừng *Zingiberaceae*. Thành phần chính của củ nghệ là curcumin là một polyphenol tạo màu sắc cho củ nghệ, không hòa tan trong nước, ether nhưng hòa tan trong ethanol, diethylsulfoxide và các dung môi hữu cơ khác. Dịch trích củ nghệ có hoạt động chống ung thư, kháng khuẩn và kháng nấm, hạ thấp mức cholesterol và ức chế sự tập trung của tiểu cầu và vì thế có tác động đến bệnh tim mạch. Ngoài ra, nghệ còn được xem là gia vị vàng, được sử dụng như là thành phần chủ yếu của các món ăn vì màu sắc, mùi và vị của chúng. Nghệ cũng được sử dụng trong các phương thuốc truyền thống để ngăn ngừa rất nhiều bệnh như dạ dày, gan và các bệnh truyền nhiễm [2].

Sả có tên khoa học *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., tên tiếng Anh Lemongrass, thuộc họ hòa thảo *Poaceae*. Sả được sử dụng như thảo dược vì có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng chất sinh ung thư, kháng viêm, chống oxy hóa bảo vệ tim mạch, chống ho, khử trùng và chống bệnh thấp khớp, trị bệnh đái tháo đường, rối loạn lipid máu và rối loạn dạ dày ruột, cảm cúm, nóng sốt và viêm phổi. Ngoài ra, sả cũng được sử dụng như gia vị tạo thêm hương và bảo quản trong nấu ăn [3].

Đây là 3 loại thực vật có tính dược liệu đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành nên gia vị chính của nước lẩu bún cá. Vì thế, nghiên cứu thực hiện bước đầu khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trích ly đến hàm lượng

các hợp chất sinh học, chất màu và hoạt động chống oxy hóa của dịch trích. Nhằm tìm ra điều kiện trích ly tối ưu để thu được dịch trích có chất lượng tốt nhất sử dụng cho chế biến gia vị nấu bún cá sau này.

## II. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Chuẩn bị mẫu nguyên liệu và bố trí thí nghiệm:

- Thân củ ngải bún, nghệ vàng và sả được đặt mua tại chợ Long Xuyên. Chọn những củ tươi mới, không bị sâu bệnh, hư thối, đem về rửa sạch. Tiến hành cắt lát với độ dày khoảng 1 mm và băm nhỏ. Phối trộn các loại nguyên liệu theo tỷ lệ tối ưu của nghiên cứu trước (ngải bún/nghe/sả là 1/1/0,75).

- Hỗn hợp nguyên liệu được trích ly ở 65<sup>0</sup>C, trong thời gian 60 phút, nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trích ly được bố trí như khảo sát. Mỗi mẫu được trích ly với thể tích cố định 200 ml, sử dụng bình tam giác có nút đậy, trong bể điều nhiệt.

- Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố: nồng độ ethanol (0, 40, 60 và 80%) và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (15/1, 20/1, 25/1 và 30/1 mL/g) với 3 lần lặp lại. Tổng số mẫu thực hiện 48 mẫu.

- Sau đó các mẫu được lọc qua giấy lọc và xác định thể tích dịch trích ly, tiến hành phân tích các chỉ tiêu theo dõi như hàm lượng các hợp chất sinh học (phenolic, flavonoid, tannin và curcumin), chất màu (chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll tổng và carotenoids tổng), hoạt động chống oxy hóa của dịch trích (AAI, DPPH và FRAP).

## 2.2 Phương pháp phân tích các chỉ tiêu chính

- Hàm lượng các hợp chất sinh học: phenolic được phân tích theo phương pháp Folin-Ciocalteu [4]; flavonoid được phân tích theo phương pháp Aluminium chloric colorimetric [5]; tannin được phân tích theo phương pháp Folin-Denis [6]; curcumin được phân tích theo phương pháp so màu của Himesh et al. [7].

- Hàm lượng các chất màu: chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll tổng và carotenoids được xác định theo phương so màu của Ghosh et al. [8].

- Hoạt động chống oxy hóa in vitro: được xác định thông qua phương pháp tổng năng lực khử AAI [9], khả năng khử gốc tự do DPPH [10] và khả năng khử sắt FRAP [11].

## 2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel và phần mềm Statgraphics Centurion XVI để tính toán xây dựng các phương trình hồi quy, vẽ đồ thị bề mặt đáp ứng và contour, phân tích phương sai ANOVA, kiểm tra mức độ khác biệt ý nghĩa của các nghiệm thức thông qua LSD (Least Significant Different).

## III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 3.1 Ảnh hưởng của nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hàm lượng các hợp chất sinh học

Kết quả phân tích ANOVA được trình bày trong Bảng 1 cho thấy hàm lượng các hợp chất sinh học như phenolic, flavonoid, tannin và curcumin đều có khuynh hướng gia tăng khi tăng nồng độ ethanol từ 0-80% và hàm lượng các hợp chất này thu được cao nhất ở nồng độ ethanol 80% với các giá trị lần lượt là 142,48 mg đương lượng acid gallic (GAE)/100 g trọng lượng tươi (FW); 152,02 mg đương lượng quercetin (QE)/100g FW; 76,52 mg đương lượng acid tannic (TAE)/100g FW và curcumin là 17,83 mg/g FW. Theo nghiên cứu của Jahangiria et al. [12] cho thấy hợp chất phenolic tổng sẽ gia tăng khi tăng nồng độ ethanol đến 80% sau đó giảm xuống. Sự thu hồi hợp chất này tốt nhất khi nồng độ ethanol trong khoảng 70-80%, kể cả khi thời gian trích ly kéo dài tới 6 giờ. Ngoài ra, nghiên cứu của Carciochi et al. [13] và Elboughdiri [14] cho thấy điều kiện trích ly phenolic tối ưu với nồng độ ethanol là 72% và 80%.

**Bảng 1: Hàm lượng các hợp chất sinh học trong dịch trích ly theo trung bình nghiệm thức (NT) của nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi (DM)/nguyên liệu (NL)**

Trung bình NT Nồng độ ethanol (%)	Phenolic (mgGAE/100g FW)	Flavonoid (mgQE/100g FW)	Tannin (mgTAE/100g FW)	Curcumin (mg/g FW)
0	72,59 <sup>d</sup>	51,50 <sup>d</sup>	37,40 <sup>d</sup>	12,28 <sup>d</sup>
40	88,18 <sup>c</sup>	62,21 <sup>c</sup>	46,57 <sup>c</sup>	14,48 <sup>c</sup>
60	125,15 <sup>b</sup>	129,04 <sup>b</sup>	66,42 <sup>b</sup>	17,31 <sup>b</sup>
80	142,48 <sup>a</sup>	152,02 <sup>a</sup>	76,52 <sup>a</sup>	17,83 <sup>a</sup>

Trung bình NT Tỷ lệ DM/NL (v/w)	Phenolic (mgGAE/100g FW)	Flavonoid (mgQE/100g FW)	Tannin (mgTAE/100g FW)	Curcumin (mg/g FW)
15/1	92,55 <sup>c</sup>	83,07 <sup>c</sup>	50,21 <sup>b</sup>	12,02 <sup>c</sup>
20/1	109,96 <sup>b</sup>	102,12 <sup>b</sup>	57,64 <sup>a</sup>	15,64 <sup>b</sup>
25/1	112,55 <sup>a</sup>	104,08 <sup>ab</sup>	58,94 <sup>a</sup>	17,19 <sup>a</sup>
30/1	113,33 <sup>a</sup>	105,49 <sup>a</sup>	60,13 <sup>a</sup>	17,15 <sup>a</sup>

**Ghi chú:** Các trung bình nghiệm thức mang các ký tự theo sau khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt thống kê qua phép thử LSD với  $p < 0,05$ .

Hàm lượng các hợp chất sinh học phenolic, flavonoid, tannin và curcumin có khuynh hướng tăng khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trích ly, đạt giá trị cao ở tỷ lệ từ 25/1 và 30/1 (mL/g), giữa hai tỷ lệ này chưa khác biệt thống kê. Điều này có thể là do khi tăng lượng dung môi, tạo cơ hội cho các chất tan tiếp xúc tốt hơn, có sự gia tăng khác biệt về nồng độ chất tan và dung môi làm cho chất tan được trích ly tốt hơn. Tuy nhiên, qua tỷ lệ tối ưu không làm gia tăng thêm hiệu suất thu hồi mà có thể làm giảm nhẹ các chất, hao tổn dung môi và chi phí nhiên liệu. Kết quả nghiên

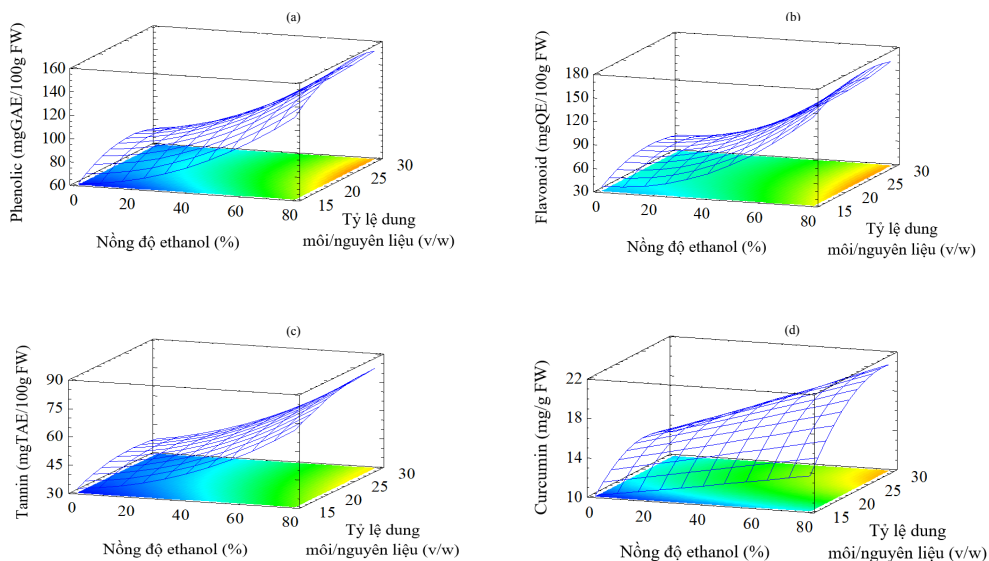
cứu của Carciochi et al. [13] và Elboughdiri [14] cho thấy tỷ lệ dung môi/nguyên liệu tối ưu để trích ly là 30/1 mL/g.

Từ kết quả nghiên cứu, tiến hành xây dựng các mô hình hồi quy để dự đoán sự biến đổi hàm lượng các hợp chất sinh học theo nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trích ly (Bảng 2). Các mô hình bậc 2 này có hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> và R<sup>2</sup>adj đều lớn hơn 90,57% và giá trị  $p < 0,0001$ . Sự biến đổi của các hợp chất sinh học theo hai nhân tố khảo sát có thể nhìn thấy rõ qua các đồ thị bề mặt đáp ứng và contour được trình bày ở Hình 1.

**Bảng 2: Các mô hình hồi quy để dự đoán các hợp chất sinh học**

Mô hình hồi quy	Hệ số $R^2$	Hệ số $R^2_{adj}$	Giá trị p
Phenolic (mgGAE/100g FW): $-27,9819 + 0,0325X + 8,3949Y + 0,0088X^2 - 0,1663Y^2 + 0,0086XY$	0,9488	0,9427	< 0,0001
Flavonoid (mgQE/100g FW): $-54,3207 - 0,2808X + 8,8143Y + 0,0175X^2 - 0,1764Y^2 + 0,0113XY$	0,9158	0,9057	< 0,0001
Tannin (mgTAE/100g FW): $-1,4008 + 0,0139X + 3,1901Y + 0,0048X^2 - 0,0624Y^2 + 0,0053XY$	0,9394	0,9322	< 0,0001
Curcumin (mg/g FW): $-8,6679 - 0,0193X + 1,8005Y + 0,00002X^2 - 0,0366Y^2 + 0,0041XY$	0,9438	0,9372	< 0,0001

**Ghi chú:**  $X$  là nồng độ ethanol (%) = 0-80%;  $Y$  là tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) = 15/1-30/1 (mL/g)



**Hình 1: Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour của phenolic (a), flavonoid (b), tannin (c) và curcumin (d) với nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu khác nhau**

### 3.2 Ảnh hưởng của nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hàm lượng chất màu chlorophyll và carotenoids

Kết quả trình bày ở Bảng 3 cho thấy hàm lượng các chất màu có sự biến đổi

tương tự như các hợp chất sinh học. Hàm lượng các hợp chất chlorophyll và carotenoids có khuynh hướng gia tăng khi tăng nồng độ ethanol từ 0-80%, đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 80%. Đây là các chất màu không tan trong nước, tan

tốt trong dung môi hữu cơ như acetone, ethanol, methanol. Nên khi tăng nồng độ ethanol trích ly các hợp chất màu này sẽ tan được nhiều hơn. Kết quả nghiên cứu của Kamal et al. [15] cũng cho thấy khi tăng nồng độ ethanol thì hàm lượng chlorophyll trích ly tăng, nồng độ ethanol để trích ly chlorophyll không nhỏ hơn 70%. Bên cạnh đó, khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) thì hàm lượng các chất màu chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll tổng và carotenoids có khuynh hướng gia tăng. Ở tỷ lệ 30/1 (mL/g) cho hàm lượng các chất màu cao nhất lần lượt là 2,58 mg/100 g; 5,44 mg/100 g; 8,02 mg/100 g và 54,42 mg/100 g FW.

Tuy nhiên, hàm lượng các chất màu giữa tỷ lệ 30/1 và 25/1 chưa có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa ( $p < 0,05$ ). Kết quả nghiên cứu của Jinasena et al. [16] cũng cho thấy khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trích ly từ 3 mL/g đến 10 mL/g thì có sự gia tăng hàm lượng chlorophyll trong dịch trích thu được, khi tăng tỷ lệ dung môi từ 3 mL/g đến 5 mL/g thì tốc độ chiết chlorophyll diễn ra tốt nhưng khi tăng hơn nữa thì tốc độ chiết chlorophyll chậm lại. Kamal et al. [15] cũng cho thấy khi tăng thể tích dung môi thì có sự gia tăng hàm lượng chlorophyll trong dịch trích ly thu được.

**Bảng 3: Hàm lượng các hợp chất màu trong dịch trích ly theo trung bình nghiệm thức (NT) của nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi (DM)/nguyên liệu (NL)**

Trung bình NT Nồng độ ethanol (%)	Chlorophyll a (mg/100g FW)	Chlorophyll b (mg/100g FW)	Chlorophyll tổng (mg/100g FW)	Carotenoids (mg/100g FW)
0	0,89 <sup>d</sup>	1,12 <sup>d</sup>	2,01 <sup>d</sup>	27,80 <sup>d</sup>
40	1,33 <sup>c</sup>	2,96 <sup>c</sup>	4,29 <sup>c</sup>	42,50 <sup>c</sup>
60	2,17 <sup>b</sup>	4,31 <sup>b</sup>	6,48 <sup>b</sup>	59,30 <sup>b</sup>
80	5,50 <sup>a</sup>	11,99 <sup>a</sup>	17,49 <sup>a</sup>	70,93 <sup>a</sup>

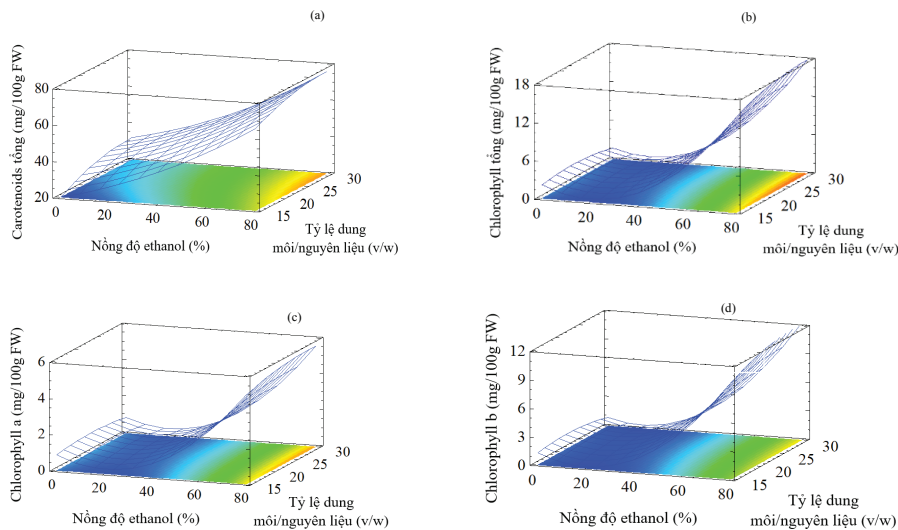
Trung bình NT Tỷ lệ DM/NL (mL/g)	Chlorophyll a (mg/100g FW)	Chlorophyll b (mg/100g FW)	Chlorophyll tổng (mg/100g FW)	Carotenoids (mg/100g FW)
15/1	2,18 <sup>c</sup>	4,32 <sup>c</sup>	6,50 <sup>c</sup>	43,27 <sup>c</sup>
20/1	2,56 <sup>a</sup>	5,26 <sup>b</sup>	7,82 <sup>b</sup>	49,43 <sup>b</sup>
25/1	2,57 <sup>a</sup>	5,37 <sup>ab</sup>	7,94 <sup>ab</sup>	53,42 <sup>a</sup>
30/1	2,58 <sup>a</sup>	5,44 <sup>a</sup>	8,02 <sup>a</sup>	54,42 <sup>a</sup>

**Ghi chú:** Các trung bình nghiệm thức mang các ký tự theo sau khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt thống kê qua phép thử LSD với  $p < 0,05$ .



Các mô hình hồi quy được xây dựng để dự đoán sự thay đổi hàm lượng các chất màu chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll tổng và carotenoids theo nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (Bảng 4). Các

mô hình bậc hai này đều có hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> và R<sup>2</sup><sub>adj</sub> lớn hơn 93,39% và giá trị p < 0,0001. Sự biến đổi của các hợp chất màu theo hai nhân tố khảo sát có thể nhìn thấy rõ qua các đồ thị bề mặt đáp ứng và contour (Hình 2).



**Hình 2:** Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour của carotenoids (a), chlorophyll tổng (b), chlorophyll a (c) và chlorophyll b (d) theo nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu khác nhau

**Bảng 4:** Các mô hình hồi quy để dự đoán các hợp chất màu

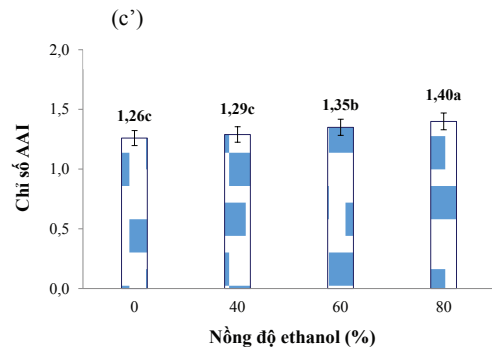
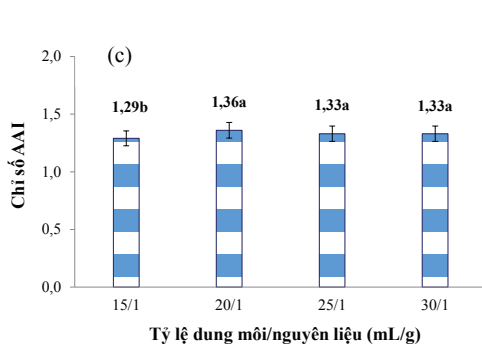
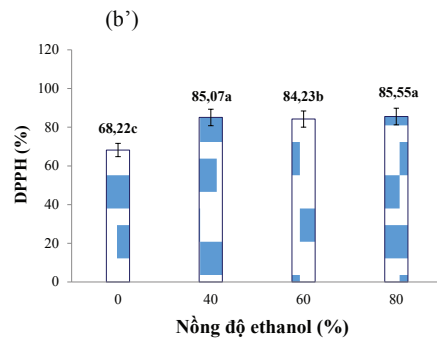
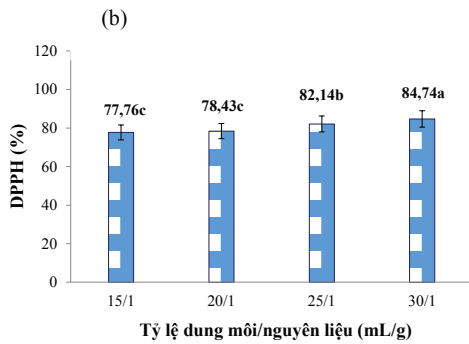
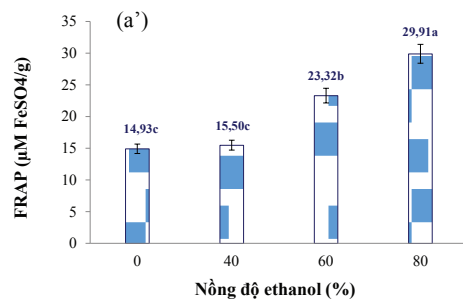
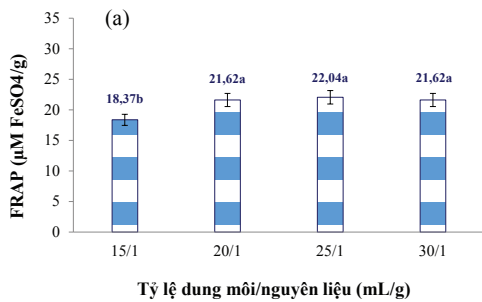
Mô hình hồi quy	Hệ số R <sup>2</sup>	Hệ số R <sup>2</sup> <sub>adj</sub>	Giá trị p
Carotenoids (mg/g FW): $-15,1298 + 0,3169X + 3,1284Y + 0,0033X^2 - 0,0517Y^2 - 0,0012XY$	0,9482	0,9420	< 0,0001
Chlorophyll tổng (mg/100g FW): $-3,1242 - 0,2049X + 0,5339Y + 0,0041X^2 - 0,0124Y^2 + 0,0026XY$ ;	0,9480	0,9418	< 0,0001
Chlorophyll a (mg/100g FW): $-0,8364 - 0,0643X + 0,1677Y + 0,0013X^2 - 0,0037Y^2 + 0,0005XY$	0,9606	0,9559	< 0,0001
Chlorophyll b (mg/g FW): $-2,2878 - 0,1406X + 0,3662Y + 0,0028X^2 - 0,0087Y^2 + 0,0021XY$	0,9409	0,9339	< 0,0001

**Ghi chú:** X là nồng độ ethanol (%) = 0-80%; Y là tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) = 15/1-30/1 (mL/g)

### 3.3 Ảnh hưởng của nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu đến hoạt động chống oxy hóa của dịch trích ly

Kết quả phân tích ở Hình 3 cho thấy hoạt động chống oxy hóa in-vitro của dịch trích thô có sự gia tăng khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ

ethanol trích ly. Đối với hoạt động khử sắt theo phương pháp FRAP thì tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 25/1 đạt giá trị cao nhất 22,04  $\mu\text{MFeSO}_4/\text{g}$  (Hình 3a) nhưng chưa khác biệt thống kê với tỷ lệ 20/1 và 30/1 (mL/g). Bên cạnh đó, giá trị FRAP đạt cao nhất khi nồng độ ethanol 80% và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa  $p < 0,05$  (Hình 3a').



**Hình 3: Đồ thị biểu diễn hoạt động chống oxy hóa của dịch trích theo phương pháp FRAP (a, a'), DPPH (b, b') và chỉ số AAI (c, c') theo nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu**



Tương tự, kết quả phân tích cũng cho thấy khả năng khử gốc DPPH đạt giá trị cao nhất 84,74% ở tỷ lệ 30/1 (mL/g) và khác biệt thống kê với các mẫu có tỷ lệ còn lại (Hình 3b) và đạt giá trị cao nhất 85,55% khi nồng độ ethanol trích ly 80%, tuy nhiên chưa khác biệt thống kê với mẫu có nồng độ ethanol 40% (Hình 3b'). Đối với chỉ số AAI, có giá trị cao khi tỷ lệ dung môi/nguyên liệu trích ly trong khoảng 20/1 đến 30/1 và đạt cao nhất ở tỷ lệ 20/1 là 1,36 nhưng chưa có sự khác biệt thống kê với mẫu có tỷ lệ 25/1 và 30/1 mL/g (Hình 3c). Theo nồng độ ethanol trích ly có sự gia tăng đáng kể và đạt giá trị cao ở 80% là 1,40 và khác biệt thống kê so với các mẫu còn

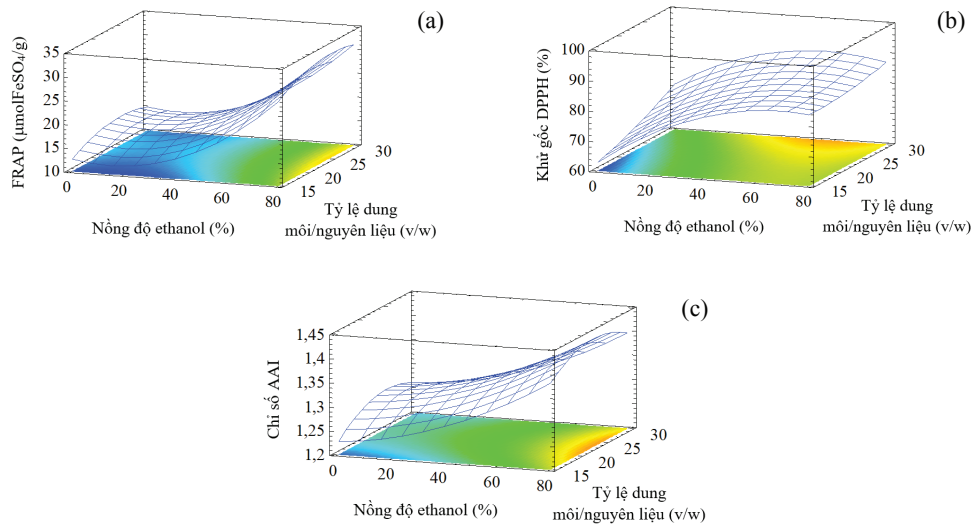
lại (Hình 3c'). Kết quả nghiên cứu của Chew et al. [17] và Carciocchi et al. [13] cũng cho thấy có sự gia tăng hoạt động chống oxy hóa DPPH khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ ethanol trích ly và đạt giá trị cao ở tỷ lệ 30/1 (v/w) và 80%.

Các mô hình hồi quy để dự đoán sự biến đổi hoạt động chống oxy hóa của dịch trích thô theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ ethanol trích ly (Bảng 5). Các mô hình bậc hai đều có hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> và R<sup>2</sup><sub>adj</sub> lớn hơn 88,98% và giá trị p < 0,0001. Sự biến đổi này có thể nhìn thấy rõ qua các đồ thị bề mặt đáp ứng và contour được trình bày ở Hình 4.

**Bảng 5: Các mô hình hồi quy để dự đoán sự biến đổi hoạt động chống oxy hóa (AAI, DPPH và FRAP) của dịch trích thô**

Mô hình hồi quy	Hệ số R <sup>2</sup>	Hệ số R <sup>2</sup> <sub>adj</sub>	Giá trị p
AAI = 0,9125 + 0,0007X + 0,0302Y + 0,00002X <sup>2</sup> - 0,0006Y <sup>2</sup> - 0,00002XY	0,9329	0,9216	< 0,0001
DPPH (%): 59,3667 + 0,7178X - 0,0593Y - 0,0044X <sup>2</sup> + 0,0194Y <sup>2</sup> - 0,0071XY	0,9305	0,9222	< 0,0001
FRAP (μM FeSO <sub>4</sub> /g): -6,3601 - 0,1277X + 1,8167Y + 0,0038X <sup>2</sup> - 0,0368Y <sup>2</sup> + 0,0009XY	0,9015	0,8898	< 0,0001

**Ghi chú:** X là nồng độ ethanol (%) = 0-80%; Y là tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) = 15/1-30/1(mL/g)



**Hình 4: Đồ thị bề mặt đáp ứng và contour của DPPH (a), FRAP (b) và AAI (c) theo nồng độ ethanol và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu khác nhau**

#### IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tăng tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (từ 15/1 mL/g đến 30/1 mL/g) và nồng độ ethanol trích ly (từ 0 đến 80%) thì hàm lượng các hợp chất sinh học (phenolic, flavonoid, tannin và curcumin), chất màu (chlorophyll và carotenoids) và hoạt động chống oxy hóa (AAI, DPPH và FRAP) của dịch trích thô có xu hướng tăng. Điều kiện trích ly tối ưu được lựa chọn là tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 25/1 mL/g và nồng độ ethanol trích ly 80% vì dịch trích ly thu được có hàm lượng các hợp chất sinh học, chất màu và hoạt động chống oxy hóa cao và có giá trị kinh tế nhất. Tại điều kiện trích ly này, hàm lượng phenolic, flavonoid, tannin và curcumin thu được lần lượt là 148,63 mgGAE/100 g; 158,98 mgQE/100 g; 77,35 mgTAE/100 g và 20,28 mg/g FW. Hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll

b, chlorophyll tổng và carotenoids là 5,85 mg/100 g; 12,93 mg/100 g; 18,78 mg/100 g và 71,47 mg/100 g FW. Hoạt động chống oxy hóa của dịch trích thô thông qua các đánh giá AAI, DPPH và FRAP lần lượt là 1,46; 88,05% và 31,16  $\mu\text{M FeSO}_4/\text{g}$ .

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chatsumpun N., Sritularak N. and Likhitwitayawuid K., (2017). *New biflavonoids with  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities from Boesenbergia rotunda*. Molecules, 22, 1862.doi:10.3390/molecules22111862.
2. Hasan M. and Mahmud M., (2014). *The contribution of turmeric research and development In the economy of Bangladesh: an ex-post analysis*. International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology, 4(1): 1-10.

3. Masuda T., Odaka Y., Ogawa N., Nakamoto K. and Kuninaga H., (2008). *Identification of geranic acid, a tyrosinase inhibitor in Lemongrass (Cymbopogon citratus)*. Journal of Agriculture Food and Chemistry, 56(2): 597-601.
4. Hossain M.A., Raqmi K.A.S., Mijizy Z.H., Weli A.M. and Riyami Q., (2013). *Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown Thymus vulgaris*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(9): 705-710.
5. Eswari M.L., Bharathi R.V. and Jayshree N., (2013). *Preliminary phytochemical screening and heavy metal analysis of leaf extracts of Ziziphus oenoplia (L) Mill. Gard*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 5(1): 38-40.
6. Laitonjam W.S., Yumnam R., Asem S.D. and Wangkheirakpam S.D., (2013). *Evaluative and comparative study of biochemical, trace elements and antioxidant activity of Phlogacanthus pubinervius T. Anderson and Phlocanthus jenkinsii C.B. Clarke leaves*. Indian Journal of Natural Products and Resources, 4(1): 67-72.
7. Himesh S., Sharan P.S., Mishra K., Govind N. And Singhai A.K., (2011). *Qualitative and quantitative profile of curcumin from ethanolic extract of Curcuma longa*. International Research Journal of Pharmacy, 2(4): 180-184.
8. Ghosh P., Das P., Mukherjee R., Banik S., Karmakar S. and Chatterjee S., (2018). *Extraction and quantification of pigments from indian traditional medicinal plants: a comparative study between tree, shrub and herb*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 9(7): 3052-3059.
9. Nguyễn Thị Minh Tú, (2009). *Quy trình chiết tách các hoạt chất sinh học từ nấm linh chi (Ganoderma lucidum)*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 47(1): 45-53.
10. Adedapo, A.A., Jimoh, F.O., Afolayan, A.J. and Masika, P.J., (2009). *Antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of Celtis africana*. Record of National Products, 3(1): 23-31.
11. Aluko, B.T., Alli, S.Y.R. and Omoyeni, O.A., (2014). *Phytochemical analysis and antioxidant activities of ethanolic leaf extract of Brillantaisia patula*. World Journal of Pharmaceutical Research, 3(3): 4914-4924.
12. Jahangiria Y., Ghahremanib H., Torghabehe J.A., Salehia E.A., (2011). *Effect of temperature and solvent on the total phenolic compounds extraction from leaves of Ficus carica*. Journal of Chemistry and Pharmaceutical Research, 3(5): 253-259.
13. Carciochi R.A., Sologubik C.A., Fernández M.B., Manrique G.D. and D'Alessandro L.D., (2018). *Extraction of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grain: Optimization and kinetics modeling*. Antioxidants 2018, 7, 45; doi:10.3390/antiox7040045.
14. Elboughdiri N., (2018). *Effect of time, solvent-solid ratio, ethanol concentration and temperature on extraction yield of phenolic compounds*

- from olive leaves*. Engineering, Technology & Applied Science Research 8(2): 2805-2808.
15. Kamal I., Jawad D.A. and Al-Jomaily A.K.K., (2006). *Extraction of Chlorophyll from Alfalfa Plant*. Al-Khwarizmi Engineering Journal, 2(1): 85-97.
  16. Jinasena M.A.M., Amarasinghe A.D.U.S., Amarasinghe B.M.W.P.K. and Prashantha M.A.B., (2016). *Extraction and degradation of chlorophyll a and b from Alternanthera sessilis*. Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka, 44(1): 11-21.
  17. Chew K.K., Khoo M.Z., Ng S.Y., Thoo Y.Y., Aida W.M.W. and Ho C.W., (2011). *Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of Orthosiphon stamineus extracts*. International Food Research Journal 18(4): 1427-1435.

## Summary

### EFFECT OF ETHANOL CONCENTRATION AND LIQUID/SOLIDS RATIO ON BIOACTIVE COMPOUNDS, PIGMENTS CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF CRUDE EXTRACT FROM MIXTURE MATERIAL OF FINGERROOT/TURMERIC/LEMONGRASS)

The research was conducted to investigate the effect of ethanol concentration (0, 40, 60 and 80%) and the liquid/solids ratio (15/1, 20/1, 25/1 and 30/1 v/w) of extraction process on bioactive compounds content (phenolic, flavonoid, tannin and curcumin), the content of pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids) and the antioxidant activity of crude extract by means of total antioxidant ability (AAI), the ability of free radical reducing (DPPH) and ferrous reducing (FRAP). Results showed that the optimal ethanol concentration and liquid/solids ratio were obtained at 80% and 25/1 v/w. At these extraction conditions, the content of phenolic, flavonoid, tannin and curcumin were 148.63 mgGAE/100 g, 158.98 mgQE/100 g, 77.35 mgTAE/100 g and 20.28 mg/g, respectively. The content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids were 5.85 mg/100 g, 12.93 mg/100 g, 18.78 mg/100 g and 71.47 mg/100 g FW. The antioxidant activity of crude extract by measurement methods (AAI was 1.46; DPPH was 88.05% and FRAP was 31.16  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/g).

**Keywords:** *Antioxidant activity, bioactive compounds, extraction, pigments, mixture material of Boesenbergia pandurata/Curcuma longa/Cymbopogon citratus.*

