

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TÁCH CHIẾT BETACYANIN TỪ VỎ QUẢ THANH LONG (*Hylocereus undatus*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI SÓNG

Đào Thị Mỹ Linh*, Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Phạm Thị Phương Thùy

Khoa CNSH, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh, 140 Lê Trọng Tấn, P. Tây Thạnh Tân Phú, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Đào Thị Mỹ Linh <linhdtm@cntp.edu.vn>
(Ngày nhận bài: 29-8-2019; Ngày chấp nhận đăng: 13-12-2019)

Tóm tắt. Betacyanin được ứng dụng làm chất màu thực phẩm hoặc mỹ phẩm thay thế chất tạo màu hóa học. Nghiên cứu này sử dụng phương pháp tối ưu hóa bề mặt đáp ứng để đánh giá ảnh hưởng đồng thời của tỉ lệ dung môi:nguyên liệu, thời gian áp dụng vi sóng và pH lên quá trình trích ly betacyanin từ vỏ quả thanh long. Hàm lượng acid ascorbic bảo quản, phenol tổng số và khả năng khử DPPH của dịch chiết betacyanin thu nhận ở điều kiện tối ưu đã được đánh giá. Tại điều kiện tối ưu: tỉ lệ dung môi: nguyên liệu = 53 (v/w); thời gian chiết = 91 (giây) và pH = 5,3, hàm lượng betacyanin thu được là 72,13 (mg/100 g). Dịch chiết được bổ sung acid ascorbic ở nồng độ 0,5% (w/v) có thời gian bảo quản dài nhất. Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết có giá trị IC₅₀ là 48,02% (v/v); hàm lượng phenol tổng số là 41,41 mg GAE/ 100 mL.

Từ khóa: betacyanin, bề mặt đáp ứng, DPPH, phenol, vi sóng

Optimization of microwave-assisted extraction of betacyanin from red dragon fruit peels

Dao Thi My Linh*, Nguyen Thi Quynh Mai, Pham Thi Phuong Thuy

Department of Biotechnology, Ho Chi Minh City University of Food Industry, 140 Le Trong Tan St., Tay Thanh Tan Phu Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

* Correspondence to Dao Thi My Linh <linhdtm@cntp.edu.vn>
(Received: 29 August 2019; Accepted: 13 December 2019)

Abstract. Betacyanin has been widely used as natural coloring agents and dyes in food and textile industries to replace conventional toxic chemical pigments. In this study, the extraction of betacyanin from red dragon fruit peels was optimized using response surface methodology. Betacyanin was determined as the response to three independent variables, namely the ratio of extraction solvent to peels, microwave-assisted treatment time, and pH. The effect of acid ascorbic concentration during the storage of betacyanin extract, the total phenolic content, and DPPH radical scavenging activity were also investigated. The optimum extraction parameters are as follows: the ratio of extraction solvent to peels is 53% (v/w); extraction time is 91 s; pH is 5.3, with the betacyanin content being 72.13 mg/100 g peels. The betacyanin extract supplemented with 0.5% (w/v) ascorbic acid has the longest storage duration. Total phenolic concentration and DPPH radical scavenging activity (IC₅₀) are 41.41 mg GAE/100 mL and 48.02 % (v/v), respectively.

Keywords: betacyanin, DPPH, microwave, phenolic, response surface methodology

1 Mở đầu

Trong những năm gần đây, sản lượng thanh long ở Việt Nam đang tăng lên đáng kể. Các giống thanh long hiện đang được canh tác gồm thanh long ruột trắng, ruột đỏ và ruột vàng. Thanh Long ruột trắng thường được trồng phổ biến ở các tỉnh nam Trung Bộ và Nam Bộ, nhưng thương hiệu nổi tiếng nhất là ở Bình Thuận – địa phương có diện tích thanh long lớn nhất cả nước. Theo thống kê đến năm 2015, diện tích thanh long của Bình Thuận là 26.026 ha, tập trung ở các huyện Hàm Thuận Nam, Hàm Thuận Bắc, Bắc Bình... với sản lượng hàng năm khoảng 500.000 tấn. Phần lớn thanh long Bình Thuận tập trung cho xuất khẩu (80–85%); trong đó, xuất khẩu chính ngạch khoảng 2–3%, còn lại là xuất tiểu ngạch qua Trung Quốc. Châu Á là thị trường chủ yếu với khối lượng xuất khẩu 6.050 tấn, đạt kim ngạch 4,14 triệu USD; Châu Âu 249 tấn, kim ngạch 554.100 USD; thị trường chủ yếu là Hà Lan (248 tấn); thị trường Tây Ban Nha và Đức không đáng kể. Thị trường Châu Mỹ chủ yếu là Canada với 134 tấn, đạt kim ngạch 235.200 USD. Thị trường nội địa chỉ tiêu thụ 15–20% sản lượng. Như vậy, có thể nhận thấy tiềm năng nguyên liệu thanh long trong nước luôn dồi dào.

Bên cạnh thịt quả thanh long giàu dinh dưỡng và được quan tâm sử dụng làm đồ uống lên men, vỏ quả cũng được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng do chứa betacyanin. Betacyanin là dạng màu tự nhiên, có thể thay thế anthocyanin thương mại từ củ cải đỏ; đồng thời, betacyanin cũng có giá trị dược liệu [1] và có tiềm năng tạo ra phụ gia màu cho thực phẩm và ngành hóa mỹ phẩm [2]. Betacyanin thường được thu nhận từ các loại củ, quả có màu đỏ như củ dền, thanh long đỏ, củ cải đỏ... Việc tận dụng vỏ thanh long để chiết betacyanin ứng dụng làm thuốc nhuộm trong

những lĩnh vực góp phần sử dụng được nguồn nguyên liệu rẻ tiền, đồng thời giải quyết được phụ phẩm từ quá trình chế biến thanh long.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Đối tượng

Nghiên cứu thực hiện trên những quả thanh long ruột trắng (*Hylocereus undatus*), thu mua tại xã Phú Ngãi Trị, huyện Châu Thành, tỉnh Long An. Quả được chọn không có sâu bệnh, cùng độ chín sinh lý. Màu vỏ quả được xác định bằng phương pháp so màu vật rắn. Vỏ quả có giá trị độ màu (h°) từ 4°11 đến 7°28, độ bão hòa màu (C) từ 28,02 đến 30,41; độ sáng (L) từ 31,73 đến 33,98 được chọn để lấy vỏ.

2.2 Vật liệu

Hóa chất dùng trong quá trình chiết xuất và thu nhận bột betacyanin: nước cất 2 lần, acid ascorbic, acid citric, sodium bicarbonate (Trung Quốc), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH có nguồn gốc từ Sigma-Aldrich).

Quá trình xử lý vi sóng được thực hiện với thiết bị Electrolux EMM2021GW. Máy ly tâm Hermle Z216M được sử dụng để ly tâm loại bỏ bã, thu dịch chiết chứa betacyanin và thiết bị cô quay chân không EYELA N1110 được sử dụng để cô đặc dung dịch chứa betacyanin. Máy đo quang phổ Optima SP3000 Nano được sử dụng để đo độ màu xác định hàm lượng betacyanin, phenol tổng số. pH được đo trên thiết bị pH InoLab pH 7110.

2.3 Phương pháp

Tối ưu hóa các điều kiện tách chiết betacyanin bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm

Quá trình xử lý và khảo sát từng yếu tố ảnh hưởng tới trích ly dịch betacyanin từ vỏ quả thanh

long được công bố trong nghiên cứu trước [3]. Tiếp theo, quá trình tối ưu hóa được thực hiện bằng phương pháp bề mặt đáp ứng nhằm đánh giá ảnh hưởng đồng thời của các yếu tố tác động lên quá trình trích ly betacyanin từ vỏ quả thanh long. Các yếu tố được lựa chọn khảo sát là tỉ lệ dung môi: nguyên liệu (X_1), thời gian xử lý vi sóng (X_2) và pH (X_3) tại 3 mức (Bảng 1) dựa trên kết quả thực nghiệm yếu tố đơn, xác định giá trị biên của các yếu tố chiết [3]. Ma trận thực nghiệm để tối ưu được thiết kế theo mô hình Box-Behnken [4]. Mô hình bao gồm 15 thí nghiệm, trong đó có 3 thí nghiệm lặp lại ở tâm (Bảng 2). Thí nghiệm lặp lại 3 lần đối với mỗi nghiệm thức. Hàm mục tiêu (Y) là hàm lượng betacyanin sau khi tách chiết (mg/100 g). Phương trình hồi quy được thể hiện như sau: $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + \varepsilon$. Trong đó X_1, X_2, X_3 lần lượt là các yếu tố tỉ lệ dung môi và nguyên liệu, thời gian xử lý vi sóng, pH của dung môi chiết; $b_1,$

b_2, b_3 là các hệ số bậc 1; b_{11}, b_{22}, b_{33} là các hệ số bậc 2; b_{12}, b_{23}, b_{13} là các hệ số tương tác của từng cặp yếu tố X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3 ; b_0 là hệ số tự do; ε là sai số ngẫu nhiên của mô hình hồi quy. Xử lý kết quả thực nghiệm bằng phần mềm Modde 5.0 để xác định phương trình hồi quy, độ tin cậy của mô hình hồi quy, đồng thời tìm ra điều kiện tối ưu để quá trình trích ly betacyanin đạt giá trị cao nhất.

Khảo sát sự ảnh hưởng của acid ascorbic đến sự ổn định của chất màu betacyanin theo thời gian

Dịch chiết betacyanin sau quá trình ly tâm được mang đi cô quay chân không đến khi độ Brix bằng 2. Chuẩn bị 5 lọ thủy tinh nâu; hút 20 mL dịch màu betacyanin sau cô quay lần lượt cho vào 5 lọ. Lần lượt bổ sung acid ascorbic ở các nồng độ 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1% (w/v) và khuấy đều đến khi tan hoàn toàn. Theo dõi hàm lượng betacyanin theo thời gian 0, 1, 2, 3, 4 tuần.

Bảng 1. Giá trị mã hóa và các mức của ma trận tối ưu

Yếu tố khảo sát	Ký hiệu	Giá trị khảo sát		
		-1	0	1
Tỉ lệ dung môi:nguyên liệu (v/w)	X_1	40	50	60
Thời gian xử lý vi sóng (giây)	X_2	80	90	100
pH dung môi chiết	X_3	4,5	5,0	5,5

Bảng 2. Một số chỉ tiêu của vỏ tươi và bột vỏ thanh long

Chỉ tiêu	Vỏ thanh long tươi	Bột vỏ thanh long
h°	4°11–7°28	18°33–19°33
Màu sắc	C	28,02–30,41
	L	31,73–33,98
Độ ẩm (%)	91,83–92,78	4,31–4,64

Khả năng khử gốc tự do DPPH

Dựa theo phương pháp của Sharma và cộng sự [5], đồng thời điều chỉnh một số điểm trên quy trình (không làm thay đổi bản chất phương pháp): Hút 5 mL dịch chiết betacyanin tại các nồng độ 100, 80, 60, 40, 20, 0% (v/v) vào các ống nghiệm. Bổ sung 5 mL dung dịch DPPH nồng độ 80 µg/mL vào mỗi ống nghiệm trên. Ủ 30 phút trong điều kiện không có ánh sáng. Tiến hành đo mật độ quang (OD) tại bước sóng 517 nm. Một thí nghiệm song song được thực hiện với đối chứng là methanol. Tỷ lệ phần trăm hoạt tính kháng oxy hóa được xác định theo công thức sau:

Tỷ lệ khử gốc tự do

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100$$

trong đó OD_m là giá trị mật độ quang của mẫu dịch chiết; OD_c là giá trị mật độ quang của mẫu đối chứng.

Từ tỷ lệ % hoạt tính khử gốc tự do DPPH, xây dựng phương trình tương quan tuyến tính, từ đó xác định giá trị IC_{50} (là nồng độ mà tại đó bắt 50% gốc tự do DPPH) để làm cơ sở so sánh khả năng kháng oxy hóa giữa các mẫu. Mẫu nào có giá trị IC_{50} càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

Hàm lượng phenol tổng

Phân tích tại trung tâm Công nghệ Việt Đức Trường ĐH Công nghiệp thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh dựa theo tiêu chuẩn TCVN 9745-1:2013. Phenol từ phần mẫu thử của bột betacyanin được chiết bằng metanol 70% ở 70 °C. Hàm lượng phenol trong dịch chiết được xác định bằng đo màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu. Thuốc thử này chứa chất oxy hóa là axit phospho-vonframic. Trong quá trình khử, các nhóm hydroxy phenol dễ bị oxy hóa. Chất oxy hóa này sinh ra màu xanh có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm. Mật độ quang được đo trên máy đo quang phổ UV-Vis SP 3000 Nano.

Xác định hàm lượng betacyanin

Hàm lượng betacyanin được xác định bằng phương pháp quang phổ. Độ hấp thụ của dịch chiết betacyanin được đo ở 538 nm và xác định hàm lượng betacyanin bằng định luật Lambert-Beer. Hàm lượng betacyanin (BC) tính theo mg/100 g chất khô [6].

Phương pháp so màu vật rắn

Màu sắc của bột betacyanin được đo bằng máy so màu vật rắn CR-400/CR-410 Konica Minolta. Xác định các giá trị L , h° và C .

$$h^\circ = [\arctan^{-1}(b/a)] ; C = \sqrt{a^2 + b^2}$$

trong đó h° (heu) là góc độ để xác định tông màu (0° hoặc 360° là tông màu đỏ; 90° là tông màu vàng; 180° là tông màu xanh lá; 270° là tông màu xanh lam); C (Chroma) là độ bão hòa của màu (đậm hoặc nhạt); L (Lightness) là độ sáng hay tối của màu; a là trị số của tông màu đỏ; b là trị số của tông màu vàng.

2.4 Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, các số liệu được ghi nhận và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp thống kê ANOVA và kiểm định LSD với độ tin cậy 95% bằng phần mềm thống kê Statgraphic XVI, vẽ đồ thị bằng phần mềm Origin 8.5.1.

3 Kết quả và thảo luận

Thanh long tươi được rửa sạch. Phần thịt quả được tách riêng và sử dụng cho nghiên cứu khác; phần vỏ đã loại tai xanh, cắt nhỏ 3×3 cm có độ ẩm trên 91,83%; sau đó được sấy khô ở 70 °C trong 16 giờ, độ ẩm đạt dưới 5%. Vỏ khô được xay bằng máy xay bột khô và rây qua kích thước lỗ 0,4 mm. Bột thu được có giá trị độ màu (h° từ 18°33 đến 19°33, C từ 17,78 đến 19,92; L từ 47,42 đến

51,25) được bảo quản trong túi nhôm ở 4 °C trong thời gian 1–3 ngày trước khi sử dụng.

3.1 Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình tách chiết betacyanin

Điều kiện tách chiết và kết quả tách chiết betacyanin từ vỏ thanh long trắng được trình bày trong Bảng 2.

Để xây dựng mô tả toán học dưới dạng phương trình hồi quy, cần phải tiến hành xác định các hệ số của phương trình. Bảng 4 trình bày kết quả phân tích phương sai ANOVA ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm mục tiêu. Dựa trên kết quả từ xử lý số liệu, các hệ số b không có ý nghĩa ($p > 0,05$) được loại bỏ và phương trình hồi quy (với X_1, X_2, X_3 là biến mã) thực nghiệm đạt được như sau:

$$Y = 70,57 + 2,793 \times X_1 + 1,606 \times X_2 + 3,596 \times X_3 - 5,998 \times X_1^2 - 4,615 \times X_3^2 + 3,523 \times X_1 \times X_3$$

Kết quả kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy với thực nghiệm (Bảng 4) cho thấy: hệ số xác định của hàm mục tiêu là $R^2 = 0,969$, chứng tỏ mô hình tối ưu là đáng tin cậy [4]. Giá trị p của mô hình là 0,003 ($<0,05$), cho thấy mô hình hồi

quy rất có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95 % [4]. Ngoài ra, trong phần đánh giá Lack of fit, giá trị p là 0,138 ($>0,05$), cho thấy mô hình hoàn toàn phù hợp với các kết quả quan sát [4]. Các hệ số của phương trình hồi quy cho thấy các nhân tố khảo sát có ảnh hưởng mạnh đến quá trình tách chiết betacyanin. Trong đó X_1, X_3 có nhiều ảnh hưởng phức tạp khi 2 nhân tố này có tương tác với nhau và vừa ảnh hưởng tích cực (+) và tiêu cực (–) đến hàm mục tiêu. X_2 ít ảnh hưởng hơn 2 nhân tố còn lại khi không có tương tác và hệ số b_2 khá thấp (+1,60625). Điều này chứng tỏ thời gian xử lý vi sóng càng dài thì hiệu quả thu nhận betacyanin tăng. Tuy nhiên, như đã phân tích về vai trò của X_1 và X_3 trong phương trình hồi quy, khi tỷ lệ dung môi:nguyên liệu và pH tăng thì hiệu quả thu nhận betacyanin tăng, nhưng khi 2 nhân tố này đạt đến một giới hạn nhất định thì hiệu quả thu nhận betacyanin sẽ có xu hướng giảm. Phân tích này rất phù hợp với bản chất của quá trình trong thực tế. Hình 1 và Hình 2 cũng thể hiện rõ điều này và dễ dàng nhận thấy có sự xuất hiện miền tối ưu trong các đồ thị trên. Hiệu quả thu nhận betacyanin tốt nhất được xác định thông qua chức năng tối ưu hóa trong phần mềm MODDE 5.0. (Hình 3).

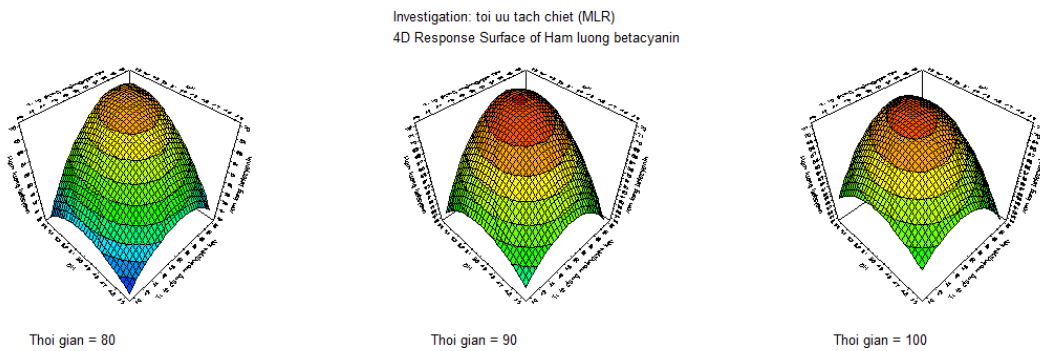
Bảng 3. Thiết kế thực nghiệm theo mô hình Box-Behnken và kết quả tối ưu

Thứ tự thí nghiệm	Biến mã hóa			Biến thực			Hàm lượng betacyanin Y (mg/100 g)
	X_1	X_2	X_3	(X_1)	(X_2)	(X_3)	
1	-1	-1	0	40	80	5,0	55,51
2	1	-1	0	60	80	5,0	65,02
3	-1	1	0	40	100	5,0	64,22
4	1	1	0	60	100	5,0	65,66
5	-1	0	-1	40	90	4,5	58,08
6	1	0	-1	60	90	4,5	56,73
7	-1	0	1	40	90	5,5	56,14
8	1	0	1	60	90	5,5	68,88
9	0	-1	-1	50	80	4,5	58,02

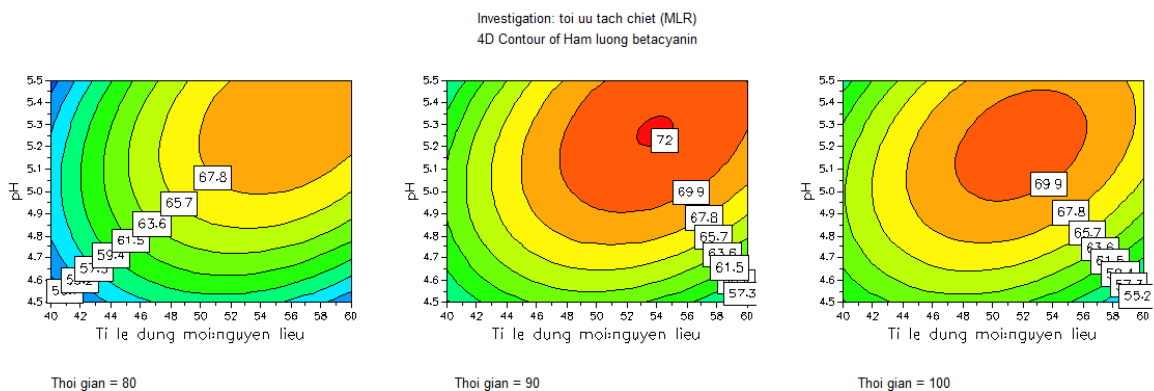
Thứ tự thí nghiệm	Biến mã hóa			Biến thực			Hàm lượng betacyanin Y (mg/100 g)
	X ₁	X ₂	X ₃	(X ₁)	(X ₂)	(X ₃)	
10	0	1	-1	50	100	4,5	60,67
11	0	-1	1	50	80	5,5	68,20
12	0	1	1	50	100	5,5	69,05
13	0	0	0	50	90	5,0	71,42
14	0	0	0	50	90	5,0	69,78
15	0	0	0	50	90	5,0	70,51

Bảng 4. Phân tích anova của mô hình hồi quy

	F	p
Phân tích hồi quy	17,6164	0,003
Phân tích "Lack of Fit"	6,42738	0,138



Hình 1. Đồ thị minh họa sự phụ thuộc của hàm mục tiêu Y vào yếu tố khảo sát



Hình 2. Đồ thị minh họa đường đồng mức

Iteration: 5004		Iteration slider: <input type="range"/>				
	1	2	3	4	5	6
	Tỉ lệ dung môi:nguyên liệu	Thời gian	pH	Hàm lượng betacyanin	iter	log(D)
1	57.5193	95.665	5.4621	70.2911	5000	-0.3266
2	53.6618	91.7135	5.2611	72.1319	4100	-10
3	59.528	80.0004	5.5	68.9196	5000	0.4108
4	53.6094	91.6333	5.2624	72.1323	4069	-10
5	57.5341	98.8164	5.4544	69.3223	5004	0.2511
6	57.5341	98.8164	5.4544	69.3223	5004	0.2511
7	57.5341	98.8164	5.4544	69.3223	5004	0.2511
8	57.5341	98.8164	5.4544	69.3223	5004	0.2511

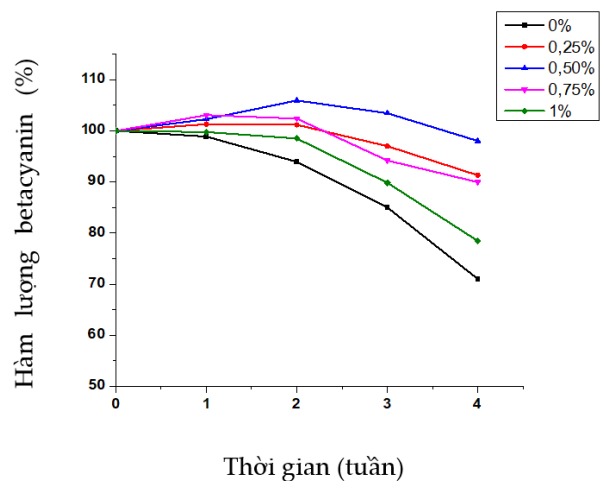
Hình 3. Tìm điều kiện tối ưu hóa cho quá trình tách chiết betacyanin trong MODDE 5.0

Kết quả tối ưu cho thấy, khi tổ hợp cả 3 yếu tố thí nghiệm, hàm lượng betacyanin thu được cao nhất là 72,13 (mg/100 g) với điều kiện trích ly tỉ lệ dung môi:nguyên liệu là 53 (w/v), thời gian chiết là 91 giây, pH là 5,3.

3.2 Đánh giá một số tính chất của dịch betacyanin

Ảnh hưởng của các nồng độ acid ascorbic khác nhau đến độ bền màu của dịch chiết betacyanin

Kết quả cho thấy tỉ lệ bổ sung acid ascorbic 0,5% (w/v) sẽ bảo quản dịch chiết betacyanin tốt nhất. Việc sử dụng các chất chống oxi hóa như acid ascorbic hoặc acid iso-ascorbic với nồng độ từ 0,1% đến 1,0% giúp ổn định betacyanin trong quả thanh long [7]. Khi có các tác nhân oxi hóa, acid ascorbic thay thế betacyanin phản ứng trước, do đó làm nguyên vẹn hoặc hạn chế phản ứng oxi hóa của hợp chất màu [8]. Phản ứng thủy phân betacyanin có tính thuận nghịch. Khi thêm acid ascorbic, iso-ascorbic, meta-phosphoric hoặc acid gluconic vào dung dịch betanin bị thủy phân thì betacyanin được tái tạo trở lại và dung dịch sẽ có màu sắc như ban đầu [9]. Do đó, trong 7 ngày đầu tiên hàm lượng betacyanin có thể tăng lên như kết quả thí nghiệm, sau đó thì giảm xuống theo thời gian do trong quá trình bảo quản, chất màu betacyanin sẽ dần bị phân hủy. Tuy nhiên, nồng độ acid ascorbic quá cao sẽ làm cho hàm lượng betacyanin giảm xuống (1,0%), điều này có thể được giải thích là do acid ascorbic là một chất lưỡng tính vừa mang tính



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ acid ascorbic đến hàm lượng betacyanin theo thời gian

khử, vừa mang tính oxi hóa, nhưng tính khử mạnh hơn. Khi tác nhân oxi hóa phản ứng hết thì acid ascorbic sẽ trở thành một chất khử betacyanin làm giảm hàm lượng betacyanin.

Một số nghiên cứu trước đây cũng có xu hướng bổ sung acid ascorbic đến một nồng độ thích hợp; hàm lượng betacyanin sẽ tăng và qua mức đó sẽ giảm [8, 10].

Hàm lượng phenol tổng số (TPC) và đánh giá khả năng khử gốc tự do DPPH

Trong các cây họ xương rồng, các sắc tố quan trọng nhất là betacyanin và betaxanthin. Betalain, bao gồm betacyanin màu đỏ tím và màu vàng

betaxanthin, là các sắc tố hòa tan trong nước tạo nên màu sắc trong hoa và trái cây. Các betacyanin được biết đến trong *Hylocereus polyrhizus* là betanin. Ngoài ra, các hợp chất polyphenol, thiol, carotenoid, tocopherol và glucosinolate, thường thấy trong trái cây, rau và ngũ cốc, có tác dụng bảo vệ chống lại stress oxy hóa trong cơ thể và duy trì sự cân bằng giữa các chất oxy hóa và chất chống oxy hóa để cải thiện sức khỏe con người. Có rất nhiều những nỗ lực nghiên cứu về hóa học của betalain ở *H. polyrhizus*. Tuy nhiên, có rất ít thông tin về các hợp chất phenol có hoạt động chống oxy hóa. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định tổng hàm lượng phenol, khả năng chống oxy hóa và xác định xem vỏ quả thanh long từ nguồn phụ phẩm các chất thải từ sản xuất nước trái cây có thể được sử dụng để thay thế cho các nguồn chất chống oxy hóa khác nhau trong việc cải thiện sức khỏe con người [11].

Để xác định khả năng khử gốc tự do DPPH, dịch chiết betacyanin được pha loãng tại các nồng độ 10, 20, 40, 60, 80, 100% (v/v) vào các ống nghiệm. Kết quả ghi nhận được về tỉ lệ hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được trình bày ở Bảng 5.

Như vậy, theo sự tăng dần nồng độ từ 20 đến 100% (v/v), tỉ lệ hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch chiết tăng dần. Điều đó chứng tỏ, khả năng kháng oxy hóa của cao chiết tăng tỉ lệ thuận theo chiều tăng nồng độ. Với nồng độ 100% (v/v), tỉ lệ khả năng khử gốc tự do ở dịch chiết betacyanin là 88,34%. Phương trình hồi quy đơn giản thể hiện mối tương quan giữa tỉ lệ hoạt tính khử gốc tự do DPPH và các nồng độ dịch chiết betacyanin là: $y = 0,88 \times x + 7,74$ ($R^2 = 0,97$) (Hình 5).

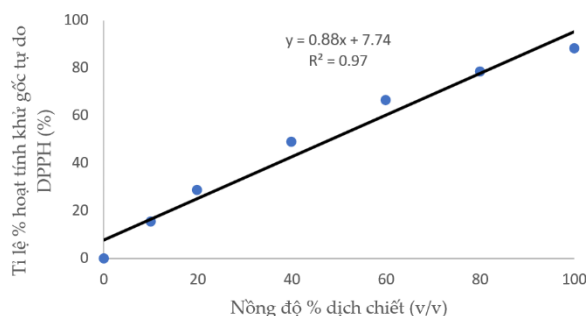
Với phương trình trên, giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế) của hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch chiết đã được xác định khi nồng độ dịch chiết là 48,02% (v/v). Nghiên cứu của Wu và cs. [11] trên

đối tượng là thanh long đỏ (Red pitaya, *Hylocereus polyrhizus*) cho biết nồng độ của betacyanin là $13,8 \pm 0,85$ mg/100 g. Hoạt tính chống oxy hóa, đo bằng phương pháp DPPH, có giá trị EC_{50} (nồng độ hiệu quả) là $118 \pm 4,12$ μ mol vitamin C/g chiết xuất từ vỏ khô [11]. Kết quả của nghiên cứu có nồng độ chất ức chế của dịch chiết cao. Điều này có thể giải thích do sự khác nhau trong quá trình trích ly dịch chiết từ betacyanin bởi nước, còn nghiên cứu của Wu và cs. là tách chiết trong acetone lạnh 80%.

Bảng 5. Tỉ lệ hoạt tính khử gốc tự do DPPH của dịch chiết betacyanin

Nồng độ dịch chiết (% v/v)	Tỉ lệ khử gốc tự do DPPH (%)
10	$15,37 \pm 1,07^a$
20	$28,58 \pm 1,06^b$
40	$48,78 \pm 0,62^c$
60	$66,32 \pm 0,25^d$
80	$78,41 \pm 0,43^e$
100	$88,34 \pm 0,30^f$

Ghi chú: Các ký tự a, b, c, d, e chỉ sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).



Hình 5. Mối quan hệ giữa nồng độ dịch chiết và khả năng khử gốc tự do DPPH

Theo kết quả phân tích, hàm lượng phenol tổng số của mẫu dịch vỏ thanh long sau cô quay theo phương pháp TCVN 9745-1, 2013, là 41,41 mg GAE/100 mL. Điều này chứng tỏ betacyanin trong dịch chiết vỏ thanh long chứa hợp chất polyphenol, có khả năng chống oxy hóa. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Wo và cs.: tổng hàm lượng phenol của vỏ là $39,7 \pm 5,39$ mg GAE/100 g trọng lượng vỏ tươi. Vỏ quả chứa polyphenol và là nguồn chất chống oxy hóa tốt. Có thể ứng dụng để tìm hiểu sự phát triển của các tế bào khối u ác tính [11]. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Naczka và cs. thì sự khác nhau về hàm lượng phenol ở dịch chiết phụ thuộc hoàn toàn vào dung môi chiết xuất; các hợp chất phenol hòa tan trong dung môi hữu cơ tốt hơn so với nước cất [12]. Trong nghiên cứu trước đó, nước cất và ethanol đã được khảo sát làm dung môi chiết betacyanin. Kết quả cho thấy hàm lượng betacyanin thu được không có sự khác biệt nhiều. Sử dụng nước cất có thể gây khó khăn trong việc phân tách các thành phần protein tan trong nước, nhưng đây là phương pháp đơn giản, chi phí thấp và đồng thời cũng mang lại hiệu quả như các dung môi hữu cơ và mục đích của nghiên cứu là thu nhận betacyanin hướng tới ứng dụng thay thế bột màu trong thực phẩm. Vì vậy, nước cất được sử dụng để trích ly betacyanin từ bột vỏ thanh long. Do đó cũng hạn chế sự hoà tan của phenol từ vỏ quả dẫn đến làm hàm lượng phenol tổng số không cao. Điều đó chứng tỏ rằng điều kiện tối ưu tách chiết betacyanin không phải là điều kiện tối ưu để tách chiết phenol [13]. Do đó, tùy vào mục đích thu nhận có thể chọn các loại dung môi khác nhau.

4 Kết luận

Với các kết quả thực nghiệm thu được, nghiên cứu xác định được sự tương tác của các yếu tố tỉ lệ dung môi:nguyên liệu, thời gian chiết, pH ở điều kiện tối ưu lần lượt là 53% (v/w), 91 giây và 5,3 cho dịch chiết có hàm lượng betacyanin là 72,13 mg/100 g. Dịch chiết betacyanin được bảo quản tốt nhất khi có acid ascorbic 0,5% (w/v), có hoạt tính

khử gốc tự do DPPH và chứa hợp chất dạng phenol. Nghiên cứu là tiền đề cho quá trình thu nhận betacyanin dạng bột hướng tới có thể bảo quản lâu và ứng dụng trong bột màu thực phẩm và sơn dưỡng môi có màu.

Thông tin tài trợ

Nghiên cứu này do trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 93/HĐ-DCT.

Lời cảm ơn

Chân thành cảm ơn Khoa Công nghệ Sinh học, bạn nhóm sinh viên 05 DSHS Trần Hạ Nghi, Huỳnh Thị Duyên, Dương Thị Diễm My, Lê Hoàng Yến Vy đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Celli GB, Brooks MS. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins – A current review. *Food Research International*. 2017;100:501-509.
2. Moßhammer M, Stintzing F, Carle R. Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived therefrom. *Food Research International*. 2005;38(8-9):975-981.
3. Linh ĐTM, Mai NTQ, Huỳnh Thị Duyên HT, Nghi TH. Nghiên cứu quá trình tạo bột màu betacyanin thu nhận từ vỏ quả thanh long (*Hylocereus undatus*). *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*. 2018;17(1):21-31.
4. Cảnh N. Quy hoạch thực nghiệm, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh; 2016.
5. Sharma S, Hullatti KK, Kumar S, Brijesh KK. Comparative antioxidant activity of *Cuscuta reflexa* and *Cassipoupa filiformis*. *Journal of Pharmacy Research*. 2012;1:441-443.
6. Ramli NS, Ismail P, Rahmat A. Influence of Conventional and Ultrasonic-Assisted Extraction on Phenolic Contents, Betacyanin Contents, and Antioxidant Capacity of Red Dragon Fruit

- (*Hylocereus polyrhizus*). *The Scientific World Journal*. 2014;2014:1-7.
7. Woo K, Ngou F, Ngo L, Soong W, Tang P. Stability of Betalain Pigment from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *American Journal of Food Technology*. 2011;6(2):140-148.
 8. Wong Y, Siow L. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *Journal of Food Science and Technology*. 2014;52(5):3086-3092.
 9. Bilyk A, Howard M. Reversibility of thermal degradation of betacyanines under the influence of isoascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1982;30(5):906-908.
 10. Quế PTT, Thủy NTT, Ngọc TTA, Nghĩa LD. Ảnh hưởng của điều kiện chế biến và bảo quản đến sự ổn định màu betacyanin trong nước ép thịt quả thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2017;51:16-23.
 11. Wu L, Hsu H, Chen Y, Chiu C, Lin Y, Ho JA. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*. 2006 03;95(2):319-327.
 12. Naczek M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 2004 Oct 29;1054(1-2):95-111.
 13. Pichayajittipong P, Thaiudom S. Optimum Condition of Beta-Cyanin Colorant Production from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peels using Response Surface Methodology. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 2014;13(1): 483-496.