

Tối ưu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết hợp chất polyphenol từ hạt cau (*Areca catechu* L.) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt

Nguyễn Bá Thọ*, Trương Minh Ngọc, Lê Thị Huyền, Nguyễn Thị Liên

Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh, 366A Trường Chinh, phường 13, quận Tân Bình, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/7/2023; ngày chuyển phản biện 7/7/2023; ngày nhận phản biện 18/7/2023; ngày chấp nhận đăng 21/7/2023

Tóm tắt:

Polyphenol là một nhóm hợp chất tự nhiên có trong thực vật với đặc tính kháng khuẩn và chống oxy hóa, mang lại nhiều tiềm năng ứng dụng trong sản xuất dược phẩm và nông nghiệp. Với mục đích tách chiết và thu nhận hàm lượng hợp chất polyphenol cao từ hạt cau (*Areca catechu* L.), nghiên cứu đã sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt để đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố kỹ thuật như nồng độ dung môi (X_1), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL) (v/w) (X_2) và thời gian ngâm (giờ) (X_3) đến hàm lượng hợp chất polyphenol (Y) được trích ly trong hạt cau. Kết quả nghiên cứu thu được mô hình mô tả tách chiết hợp chất polyphenol từ hạt cau bằng hàm mục tiêu $Y = 80,64 + 3,10X_1 - 1,27X_2 - 6,00X_1^2 - 3,66X_2^2 - 5,07X_3^2$. Dựa vào hàm mục tiêu, kết quả hàm lượng polyphenol được thu nhận cao nhất là 80,72 mg GAE/g nguyên liệu, với các điều kiện tối ưu như sau: nồng độ dung môi ethanol 55%, tỷ lệ ngâm DM/NL (v/w) 35/1 và thời gian ngâm 2 giờ. Kết quả hàm lượng polyphenol của thực nghiệm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với kết quả dự đoán của mô hình. Kết quả này là tiền đề cho quy trình thu nhận hợp chất polyphenol từ hạt cau ứng dụng kháng khuẩn trong nông nghiệp và y dược.

Từ khóa: *Areca catechu* L., đáp ứng bề mặt, hạt cây cau, polyphenol.

Chỉ số phân loại: 2.4

1. Đặt vấn đề

Cây cau (*Areca catechu* L.) thuộc họ Cau (*Areaceae*) [1], được trồng phổ biến ở Việt Nam và nhiều nơi trên thế giới. Hạt cây cau được xác định có hơn 59 hợp chất, trong đó các nhóm có hàm lượng cao là polyphenol [2], alkaloid, flavonoid, tanin, triterpen [3]. Trong đó, hợp chất polyphenol có nhiều hoạt tính sinh học như kháng khuẩn (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*), chống oxy hóa và ký sinh trùng (*Ascardia galli*, *Ascaris suum*, *Fasciolopsis buski*) [4]. Một nghiên cứu gần đây đã dự đoán sự gia tăng nhu cầu sử dụng polyphenol [5], theo đó nhu cầu về polyphenol trên thị trường polyphenol toàn cầu được định giá 761,9 triệu USD vào năm 2020 và dự kiến sẽ đạt 969,2 triệu USD vào cuối năm 2026, tăng trưởng 3,5% trong giai đoạn 2021-2026.

Trong các bước thu nhận hợp chất polyphenol trong thực vật thì chiết xuất là bước quan trọng. Tuy nhiên, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của quá trình chiết xuất. Tính chất không ổn định, đa dạng của các hợp chất polyphenol từ các loài thực vật khác nhau nên đòi hỏi một cách chiết xuất phù hợp cho từng mẫu thực vật [6, 7]. Do đó, việc xác định các điều kiện chiết xuất rất quan trọng để thu nhận tối đa hàm lượng polyphenol có trong mẫu. Một số yếu tố cần được xem xét khi sử dụng các kỹ thuật chiết xuất bao gồm loại và tỷ lệ dung môi, thời gian chiết và tỷ lệ chất rắn với chất lỏng để đảm bảo chiết xuất hoàn toàn các hợp chất quan tâm, đồng thời tránh biến đổi hóa học [6, 8-10].

Các nghiên cứu chiết xuất có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đơn yếu tố [11, 12] hoặc phương pháp đáp ứng bề mặt [7, 13]. Trong cách tiếp cận đơn yếu tố thì tại một thời điểm chỉ có một yếu tố được chọn thay đổi trong khi tất cả các yếu tố khác không đổi. Cách tiếp cận này tốn thời gian và tốn kém. Ngoài ra, các tác động tương tác giữa các biến không thể đánh giá được [7, 14]. Phương pháp đáp ứng bề mặt là một phương pháp thống kê sử dụng dữ liệu từ các thiết kế thí nghiệm phù hợp để xác định và giải đồng thời các phương trình đa biến. Các phương trình này có thể được biểu diễn bằng đồ thị dưới dạng các bề mặt đáp ứng, có thể được sử dụng theo 3 cách: i) Để mô tả ảnh hưởng của các biến thử nghiệm ở đơn lẻ đến kết quả; ii) Để xác định mối quan hệ giữa các biến thử nghiệm với nhau; iii) Để mô tả hiệu quả kết hợp của các biến thử nghiệm lên kết quả [15]. Cách tiếp cận này có thể khắc phục được những nhược điểm của phương pháp đơn yếu tố [14] và đã có nghiên cứu sử dụng trong việc chiết xuất các hợp chất polyphenol từ các nguồn thực vật như từ hạt quả chokeberry, vỏ quả lựu, vỏ cây vân sam, hạt lúa mì [16-19].

Mặc dù, việc tối ưu hóa các điều kiện chiết xuất hợp chất thực vật bằng phương pháp đáp ứng bề mặt có nhiều ưu điểm nhưng chưa có nhiều nghiên cứu trong nước về tối ưu hóa việc chiết xuất các hợp chất polyphenol từ hạt cây cau. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu một số điều kiện chiết xuất (nồng độ dung môi, thời gian chiết xuất và tỷ lệ dung môi) cần thiết để chiết xuất các thành phần

*Tác giả liên hệ: Email: nguyentbatho0705@gmail.com

Optimising certain factors influencing the process of extracting polyphenolic compounds from areca nuts (*Areca catechu* L.) using response surface methodology

Ba Tho Nguyen*, Minh Ngoc Truong,
Thi Huyen Le, Thi Lien Nguyen

National Center for Technological Progress,
Ho Chi Minh City Branch, 366A Truong Chinh Street,
Ward 13, Tan Binh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 4 July 2023; revised 18 July 2023; accepted 21 July 2023

Abstract:

Polyphenols are a group of natural compounds found in plants with antibacterial and antioxidant properties, offering significant potential applications in pharmaceutical and agricultural production. To extract and obtain a high content of polyphenolic compounds from areca nuts (*Areca catechu* L.), the study utilised a surface response methodology to assess the impact of various technical factors such as solvent concentration (X_1), solvent-to-material ratio (v/w) (X_2), and soaking time (hours) (X_3) on the yield of polyphenolic compounds (Y) extracted from areca nuts. The study's results yielded a model describing the extraction of polyphenolic compounds from areca nuts using the objective function $Y = 80.64 + 3.10X_1 - 1.27X_3 - 6.00X_1^2 - 3.66X_2^2 - 5.07X_3^2$. Based on the objective function, the highest polyphenol content obtained was 80.72 mg GAE/g of raw material under the following conditions: ethanol solvent concentration of 55%, solvent-to-material ratio (v/w) of 35/1, and soaking time of 2 hours. The experimental polyphenol content results showed no statistically significant differences compared to the model-predicted outcomes. These results serve as a basis for the polyphenol extraction process from areca nuts with antibacterial applications in agriculture and medicine.

Keywords: *Areca catechu* L., areca nut, phenolic, response surface methodology.

Classification number: 2.4

polyphenol trong hạt cây cau và xác định các điều kiện tối ưu cho hiệu suất chiết xuất tối đa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Quả cau đã già có vỏ màu vàng được thu nhận vào tháng 9-12, được rửa sạch. Sau đó, phần hạt được tách lấy ra khỏi vỏ và được sấy ở nhiệt độ 60°C để đạt độ ẩm dưới 10%.

Tiến hành nghiền mịn hạt cau và ray mẫu qua khay ray có kích thước lỗ 1 mm. Mẫu bột được bảo quản trong túi polyethylene tối màu kín khí, ở nhiệt độ phòng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng đơn yếu tố đến hàm lượng polyphenol trong dịch chiết hạt cau: Các yếu tố nồng độ dung môi ethanol (E), methanol (M) (30 đến 90%, bước nhảy 20%) và nước, tỷ lệ DM/NL (25/1 đến 45/1 (v/w), bước nhảy 5 ml), thời gian ngâm (2 đến 8 giờ, bước nhảy 2 giờ) được lần lượt khảo sát đơn yếu tố. Các thí nghiệm tiếp theo được kế thừa kết quả của các thí nghiệm đơn yếu tố trước. Mẫu dịch chiết được lắc liên tục trong quá trình ngâm với tốc độ 100 vòng/phút trong suốt quá trình tách chiết. Dịch chiết sau khi được lọc thô bằng bông thấm nước, sau đó được lọc qua giấy lọc (đường kính lỗ lọc 15-20 μ m) và thực hiện định lượng hợp chất polyphenol có trong dịch chiết phương pháp Folin-Ciocalteu [20].

2.2.2. Tối ưu hóa quá trình ly trích polyphenol từ hạt cây cau trong dung môi ethanol: Dựa trên kết quả khảo sát ảnh hưởng của các đơn yếu tố đến hàm lượng polyphenol, các đơn yếu tố có ảnh hưởng được chọn để xây dựng quy trình tách chiết tối ưu hóa. Thí nghiệm tối ưu hóa quá trình ly trích polyphenol từ hạt cây cau được bố trí theo kiểu mô hình Box-Behnken. Mô hình bao gồm 15 thí nghiệm, trong đó giá trị biên của 3 yếu tố được lựa chọn tối ưu là nồng độ dung môi (X_1), tỷ lệ DM/NL (X_2) và thời gian ngâm (X_3) được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Mã hóa giá trị các yếu tố khảo sát cho thí nghiệm tối ưu theo mô hình Box-Behnken.

Các biến	Mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu		
			-1	0	1
Nồng độ dung môi ethanol	X_1	%	30	50	70
Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu	X_2	v/w	30/1	35/1	40/1
Thời gian ngâm	X_3	giờ	1	2	3

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 15 thí nghiệm, trong đó có 3 thí nghiệm ở tâm. Mô hình dạng toàn phương bậc hai được xác định bằng hồi quy đa biến.

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{23}X_2X_3 + a_{13}X_1X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2$$

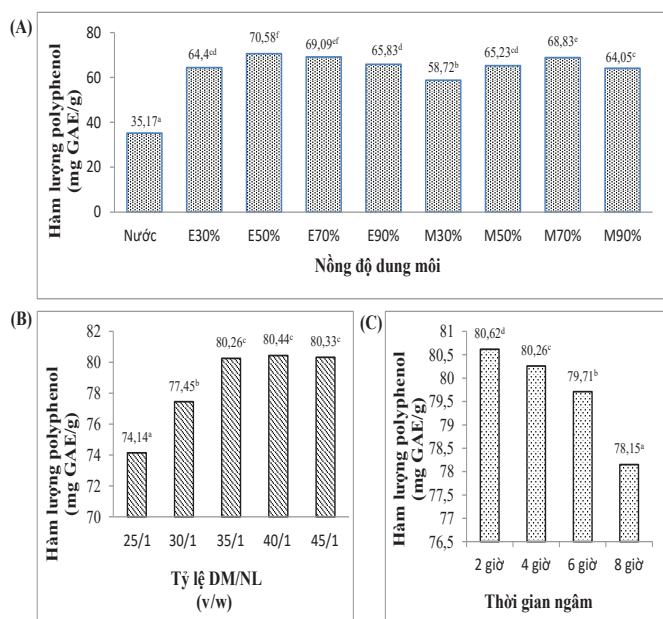
trong đó: Y: hàm lượng polyphenol (mg GAE/g nguyên liệu); a_0 : hệ số hồi quy; a_1, a_2, a_3 : hệ số bậc 1; a_{12}, a_{23}, a_{13} : hệ số tương tác đôi từng cặp yếu tố; a_{11}, a_{22}, a_{33} : hệ số bậc 2.

2.2.3. Phương pháp thống kê: Các số liệu thí nghiệm được ghi nhận và biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2010. Kết quả đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm bằng phương pháp thống kê ANOVA và kiểm định LSD với $p < 0,05$ bằng phần mềm thống kê Statgraphic XV. Thí nghiệm mô hình tối ưu hóa và số liệu, biểu đồ được thiết kế bằng phần mềm Minitab 18.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến hàm lượng polyphenol

Ảnh hưởng của các loại dung môi đến khả năng tách chiết polyphenol trong hạt cây cau được thể hiện ở hình 1A. Trong 9 dung môi khảo sát, hàm lượng polyphenol được trích ly bằng dung môi ethanol ở nồng độ ethanol 30-50% tăng lần lượt từ 64,40 đến 70,58 mg GAE/g nguyên liệu, tiếp tục tăng nồng độ ethanol từ 70 đến 90% thì hàm lượng polyphenol giảm lần lượt từ 69,09 đến 65,83 mg GAE/g nguyên liệu. Tương tự, dung môi methanol có hiệu quả trích ly polyphenol tăng từ nồng độ dung môi 30 đến 70% (58,72-68,83 mg GAE/g nguyên liệu) và tiếp tục tăng nồng độ dung môi đến 90% thì hàm lượng polyphenol giảm. Trong các dung môi khảo sát, hàm lượng polyphenol ở dung môi ethanol 50% là cao nhất và thấp nhất khi tách bằng nước (35,17 mg GAE/g nguyên liệu). Do đó, dung môi ethanol có nồng độ 50% được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu đã chứng minh hàm lượng polyphenol được thu nhận cao trong dung môi phân cực methanol/ethanol với nước hơn trong dung môi methanol/ethanol tuyệt đối [21-23].



Hình 1. Hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau được ly trích ở các điều kiện đơn. (A) Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng polyphenol; (B) Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng polyphenol; (C) Ảnh hưởng của thời gian ngâm đến hàm lượng polyphenol. Các giá trị theo sau bởi các chữ cái giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,05$ bằng trắc nghiệm phân hạng LSD.

Tỷ lệ dung môi và nguyên liệu là một trong những yếu tố quan trọng trong tối ưu hóa quy trình thu nhận hoạt chất thực vật. Kết quả ở hình 1B cho thấy, hàm lượng polyphenol tăng dần từ tỷ lệ DM/NL (v/w) là 25/1 đến 35/1, giá trị tương ứng tăng từ 74,14 đến 80,26 mg GAE/g nguyên liệu và có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Tuy nhiên, khi tăng tỷ lệ DM/NL từ 35/1 đến 45/1 hàm lượng polyphenol không có sự khác biệt so với các tỷ lệ ($p>0,05$). Do vậy, tỷ lệ DM/NL được chọn cho các thí nghiệm tối ưu tiếp theo là 35/1 (v/w).

Kết quả ảnh hưởng của thời gian ngâm đến hàm lượng polyphenol trích ly từ hạt cây cau được thể hiện ở hình 1C cho thấy, khi tăng thời gian ngâm từ 2 đến 8 giờ thì hàm lượng polyphenol giảm từ 80,62 xuống 78,15 mg GAE/g nguyên liệu và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Kết quả này tương ứng với kết quả trong nghiên cứu của T.N.H. Lai và cs (2014) [24] là quá trình chiết xuất kéo dài hơn ở mức 120 phút có thể dẫn đến quá trình oxy hóa hoặc phân hủy hợp chất phenol do tiếp xúc với ánh sáng, oxy hoặc nhiệt độ cao. Do vậy, mốc thời gian 2 giờ được chọn là thời gian ngâm thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo trong tối ưu hóa

3.2. Tối ưu quá trình thu nhận polyphenol từ hạt cây cau

Dựa vào kết quả khảo sát ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol của 3 yếu tố đơn, dung môi ethanol (X_1) 30 đến 70% được chọn, tỷ lệ DM/NL (v/w) (X_2) từ 30 đến 40 và thời gian ngâm (giờ) (X_3) từ 1 đến 3 giờ để tối ưu quy trình trích ly polyphenol trong hạt cau. Các nghiệm thức thiết kế được dựa vào phần mềm Minitab 18 theo mô hình Box-Behnken và các mức thí nghiệm được trình bày ở bảng 2 với 3 nghiệm thức trung tâm (nghiệm thức 13 đến 15). Kết quả ở bảng 2 cho thấy, trong 15 nghiệm thức, hàm lượng polyphenol thu nhận từ hạt cây cau trong khoảng 63,98 (nghiệm thức 7) đến 81,39 mg GAE/g vật liệu khô (nghiệm thức 14). Hàm lượng polyphenol thu nhận được từ hạt cây cau trong 3 nghiệm thức trung tâm (nghiệm thức 13 đến 15) cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so sánh với các nghiệm thức còn lại.

Phân tích ANOVA đã được thực hiện để đánh giá tác động của các yếu tố đơn, sự tương tác giữa các yếu tố và mức độ phù hợp của mô hình dự đoán với thực nghiệm được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol thu nhận được ảnh hưởng trực tiếp bởi 3 yếu tố khảo sát

Bảng 2. Ma trận thiết kế thí nghiệm Box-Behnken, số liệu thực nghiệm và giá trị dự đoán theo mô hình.

Thí nghiệm thứ	Nồng độ EtOH (%)	Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w)	Thời gian trích ly (giờ)	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g nguyên liệu)	
	X_1	X_2	X_3	Thực nghiệm	Dự đoán
1	30	30:1	2	68,87 ^{bc} ±2,60	68,58
2	70	30:1	2	72,70 ^{def} ±0,12	73,50
3	30	40:1	2	68,58 ^{bc} ±0,29	67,77
4	70	40:1	2	74,98 ^f ±0,26	75,27
5	30	35:1	1	67,86 ^b ±0,45	68,26
6	70	35:1	1	74,08 ^e ±0,28	73,40
7	30	35:1	3	63,98 ^a ±0,20	64,66
8	70	35:1	3	72,35 ^{de} ±3,14	71,94
9	50	30:1	1	72,25 ^d ±1,39	72,12
10	50	40:1	1	74,44 ^e ±1,55	74,83
11	50	30:1	3	72,21 ^d ±1,17	71,82
12	50	40:1	3	69,95 ^c ±1,35	70,07
13	50	35:1	2	80,28 ^g ±4,56	80,64
14	50	35:1	2	81,39 ^g ±0,16	80,64
15	50	35:1	2	80,25 ^g ±5,41	80,64

Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi các chữ cái giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,05$ bằng trắc nghiệm phân hạng LSD.

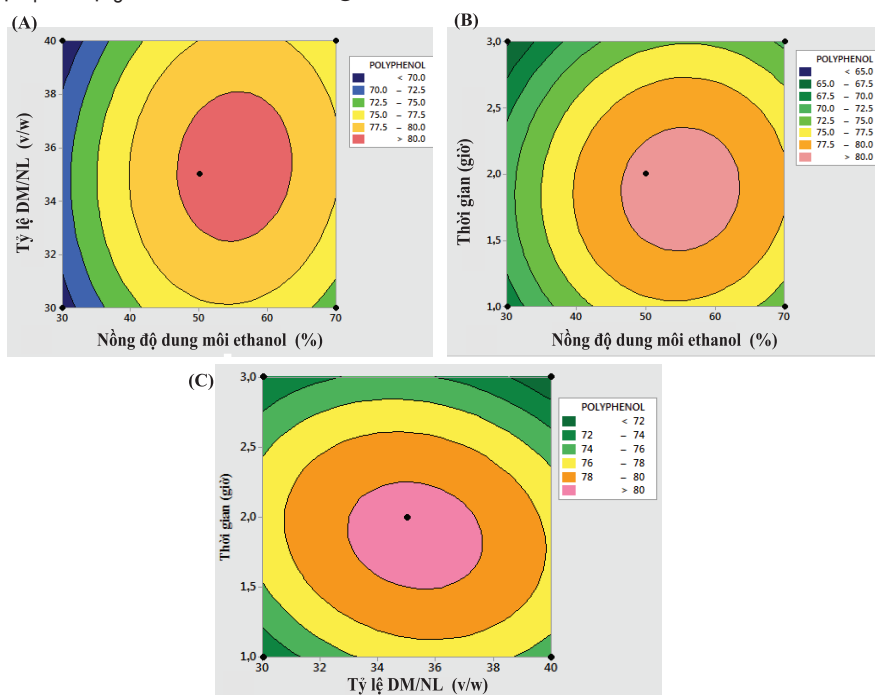
là nồng độ ethanol (X_1), tỷ lệ DM/NL (X_2) và thời gian ngâm (X_3). Tuy nhiên, các yếu tố khác nhau có xu hướng ảnh hưởng đến hàm mục tiêu khác nhau. Trong đó, khi tăng nồng độ dung môi ethanol (X_1) thì hàm lượng polyphenol sẽ tăng, nhưng khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol (X_1^2) thì hàm lượng polyphenol giảm. Các yếu tố X_2 và X_3 đều ảnh hưởng tiêu cực đến hàm mục tiêu biểu diễn hàm lượng polyphenol, do vậy khi tăng thời gian ngâm và tỷ lệ ngâm thì hàm lượng polyphenol thu nhận càng giảm. Bên cạnh đó, các cặp yếu tố tương tác (X_1X_2 , X_1X_3 và X_2X_3) không có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu ($p>0,05$). Dựa vào các kết quả trên, phương trình hồi quy thực nghiệm được xây dựng là: $Y = 80,64 + 3,10X_1 - 1,27X_3 - 6,00X_1^2 - 3,66X_2^2 - 5,07X_3^2$.

Bảng 3. Ý nghĩa thống kê của các hệ số trong mô hình thực nghiệm.

Các hệ số	Giá trị	Độ lệch chuẩn	t-value	p-value
Hệ số tự do	80,64	0,51	158,56	0,000
X_1	3,10	0,31	9,97	0,000
X_2	0,24	0,31	0,77	0,477
X_3	-1,27	0,31	-4,07	0,010
X_1^2	-6,00	0,46	-13,09	0,000
X_2^2	-3,36	0,46	-7,33	0,001
X_3^2	-5,07	0,46	-11,07	0,000
X_1X_2	0,64	0,44	1,46	0,205
X_1X_3	0,54	0,44	1,22	0,278
X_2X_3	-1,11	0,44	-2,53	0,053

X_1 : nồng độ ethanol (%); X_2 : tỷ lệ DM/NL (v/w); X_3 : thời gian trích ly (giờ).

Tính tương thích của hàm mục tiêu với thực nghiệm được thể hiện ở bảng 4, giá trị xác suất p-value của mô hình đạt 0,000 ($<0,05$) cho thấy mô hình có ý nghĩa thống kê. Hệ số hồi quy $R^2=97,62\%$ cho thấy mối quan hệ của các yếu tố chiết suất với hiệu suất thu nhận polyphenol và mô hình phù hợp để chiết xuất. Hệ số sai số của mô hình (Lack of fit) có giá trị p-value đạt 0,304 ($>0,05$) cho thấy mô hình phù hợp với thực nghiệm.



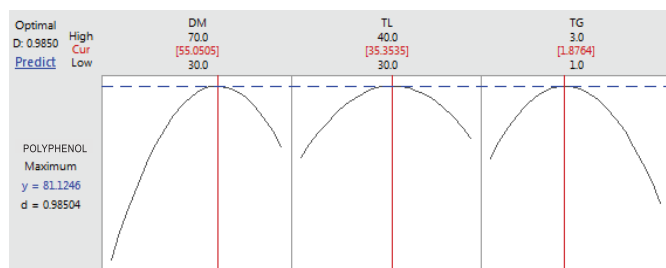
Hình 2. Tương quan giữa các yếu tố trong phương trình hồi quy. (A) Tương tác giữa tỷ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ ethanol; (B) Tương tác giữa nồng độ ethanol và thời gian ngâm chiết; (C) Tương tác giữa tỷ lệ DM/NL và thời gian ngâm chiết.

Bảng 4. Phân tích phương sai cho mô hình thực nghiệm.

Nguồn	Hệ số tự do	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	f-value	p-value
Sai số của mô hình	3	3,047	1,016	2,44	0,304
Sai số ngẫu nhiên	2	0,833	0,417		
Tổng số	14	338,560			

Sự tương tác của từng cặp yếu tố đến hàm lượng polyphenol được mô tả dưới dạng đồ thị 2D trong hình 2. Biểu đồ bề mặt đáp ứng giữa tỷ lệ ngâm và nồng độ ethanol được thể hiện ở hình 2A cho thấy, tại nồng độ ethanol 30-50% khi tăng tỷ lệ ngâm (v/w) ở tất cả các nồng độ sẽ làm tăng hàm lượng polyphenol, tuy nhiên khi tăng tỷ lệ ngâm (v/w) từ 35/1 đến 40/1, ở nồng độ ethanol 50-70% hàm lượng polyphenol giảm. Hình 2B mô tả sự ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng polyphenol thu nhận, tại mốc thời gian xác định (1-3 giờ), khi tăng nồng độ dung môi chiết 30-50% thì hàm lượng polyphenol tăng và giảm ở nồng độ ethanol 50-70%. Sự ảnh hưởng của tỷ lệ ngâm và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng polyphenol được thể hiện ở hình 2C, tại tỷ lệ ngâm nhất định, khi tăng thời gian ngâm chiết 1-2 giờ thì hàm lượng polyphenol tăng và tiếp tục tăng thời gian chiết thì hàm lượng polyphenol có xu hướng giảm do quá trình oxy hóa xảy ra trong dịch chiết khi thời gian trích ly quá lâu.

Các điều kiện chiết suất hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau tối ưu đạt được từ mô hình với nồng độ ethanol là 55,05%, tỷ lệ ngâm (v/w) 35,35/1 và thời gian ngâm 1,88 giờ thì giá trị hàm lượng polyphenol kỳ vọng là 81,12 mg GAE/g nguyên liệu (hình 3). Kết quả kiểm chứng thực nghiệm các điều kiện tách chiết polyphenol từ hạt cây cau cụ thể như sau: nồng độ dung môi ethanol 55%, tỷ lệ ngâm (v/w) 35/1 và thời gian ngâm 2 giờ thì hàm lượng polyphenol thực tế thu được là 80,72 mg GAE/g nguyên liệu.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn các điểm tối ưu của các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol từ hạt cau.

Với các điều kiện chiết suất hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau tối ưu thì hàm lượng polyphenol được thu nhận cao hơn khi so sánh với kết quả nghiên cứu của R. Wang và

cs (2021) [25] cho thấy, hàm lượng polyphenol được trích ly từ hạt cây cau sử dụng phương pháp vi sóng 400 W trong dung môi ethanol 50%, tỷ lệ ngâm 10/1 (v/w) trong 60 phút ở 45°C đạt 57,92 mg GAE/g nguyên liệu.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được các yếu tố đưa vào mô hình tối ưu hóa quy trình trích ly hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau là nồng độ dung môi (X_1), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) (X_2) và thời gian ngâm (X_3). Mô hình tối ưu được thể hiện qua phương trình: $Y = 80,64 + 3,10X_1 - 1,27X_2 - 6,00X_1^2 - 3,66X_2^2 - 5,07X_3^2$.

Hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau được thu nhận cao nhất là 80,72 mg GAE/g nguyên liệu, với các điều kiện tối ưu như sau: nồng độ dung môi ethanol 55%, tỷ lệ ngâm (v/w) 35/1 và thời gian ngâm 2 giờ. Kết quả này là tiền đề cho quy trình thu nhận hợp chất polyphenol từ hạt cau ứng dụng kháng khuẩn trong nông nghiệp và y dược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.T. Loi (1995), *Vietnamese Medicinal Plants and Herbs*, Science and Technics Publishing House, pp.172-174 (in Vietnamese).
- [2] Y.V. Chavan, R.S. Singhal (2013), "Separation of polyphenols and arecoline from areca nut (*Areca catechu* L.) by solvent extraction, its antioxidant activity, and identification of polyphenols", *Journal of The Science of Food and Agriculture*, **93**(10), pp.2580-2589, DOI: 10.1002/jsfa.6081.
- [3] W. Peng, Y.J. Liu, N. Wu, et al. (2015), "*Areca catechu* L. (*Areaceae*): A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology", *Journal of Ethnopharmacology*, **164**, pp.340-356, DOI: 10.1016/j.jep.2015.02.010.
- [4] M. Grover (2021), "*Areca catechu* L. (Chikni Supari): A review based upon its ayurvedic and pharmacological properties", *The Journal of Phytopharmacology*, **10**(5), pp.338-344, DOI: 10.31254/phyto.2021.10510.
- [5] G. Baron, G. Ferrario, C. Marinello, et al. (2021), "Effect of extraction solvent and temperature on polyphenol profiles, antioxidant and anti-inflammatory effects of red grape skin by-product", *Molecules*, **26**(18), DOI: 10.3390/molecules26185454.
- [6] M. Majeed, A.I. Hussain, S.A.S Chatha, et al. (2016), "Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology", *Saudi. J. Biol. Sci.*, **23**, pp.389-396, DOI: 10.1016/j.sjbs.2015.04.010.
- [7] E.M. Silva, H. Rogez, Y. Larondelle (2007), "Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology", *Sep. Purif. Technol.*, **55**(3), pp.381-387, DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.008.
- [8] J.W. Lee, E.J. Mo, J.E. Choi, et al. (2016), "Effect of Korean red ginseng extraction conditions on antioxidant activity, extraction yield, and ginsenoside Rg1 and phenolic content: Optimization using response surface methodology", *J. Ginseng Res.*, **40**(3), pp.229-236, DOI: 10.1016/j.jgr.2015.08.001.

- [9] K.M. Hammi, A. Jdey, C. Abdelly, et al. (2015), "Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology", *Food Chem.*, **184**, pp.80-89, DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.047.
- [10] X. Wu, X. Yu, H. Jing (2011), "Optimization of phenolic antioxidant extraction from wuweizi (*Schisandra chinensis*) pulp using random-centroid optimization methodology", *Int. J. Mol. Sci.*, **12**, pp.6255-6266, DOI: 10.3390/ijms12096255.
- [11] R. Kossah, C. Nsabimana, H. Zhang, et al. (2010), "Optimization of extraction of polyphenols from Syrian sumac (*Rhus coriaria* L.) and Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruits", *Research Journal of Phytochemistry*, **4**(3), pp.146-153, DOI: 10.3923/rjphyto.2010.146.153.
- [12] R. Chirinos, H. Rogez, D. Campos, et al. (2007), "Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers", *Separation and Purification Technology*, **55**(2), pp.217-225, DOI: 10.1016/j.seppur.2006.12.005.
- [13] D.R. Pompeu, E.M. Silva, H.J.B.T. Rogez (2009), "Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology", *Bioresource Technology*, **100**(23), pp.6076-6082, DOI: 10.1016/j.biortech.2009.03.083.
- [14] K.K. Chew, M.Z. Khoo, S.Y. Ng, et al. (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), pp.1427-1435.
- [15] M. Radojkovica, Z. Zekovica, S. Jokicb, et al. (2012), "Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using Response surface methodology (RSM)", *Romanian Biotechnological Letters*, **17**(3), pp.7295-7308.
- [16] V.M. Simic, K.M. Rajkovic, S.S. Stojicevic, et al. (2016), "Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network", *Separation and Purification Technology*, **160**, pp.89-97, DOI: 10.1016/j.seppur.2016.01.019.
- [17] K. Sinha, P.D. Saha, S. Datta (2012), "Response surface optimization and artificial neural network modeling of microwave assisted natural dye extraction from pomegranate rind", *Industrial Crops and Products*, **37**(1), pp.408-414, DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.12.032.
- [18] R.E. Ghitescu, I. Volf, C. Carausu, et al. (2015), "Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark", *Ultrasonics Sonochemistry*, **22**, pp.535-541, DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.07.01.
- [19] C. Liyana-Pathirana, F. Shahidi (2005), "Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology", *Food Chemistry*, **93**(1), pp.47-56, DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.08.050.
- [20] H. Cheng, X. Liu, C. Wang, et al. (2021), "Optimization of purification conditions for areca seeds using microporous resins", *Journal of Food Measurement and Characterization*, **15**, pp.2440-2447, DOI: 10.1007/s11694-021-00831-y.
- [21] P. Siddhuraju, K. Becker (2003), "Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**(8), pp.2144-2155, DOI: 10.1021/jf020444+.
- [22] F. Anwar, A. Jamil, S. Iqbal, et al. (2006), "Antioxidant activity of various plant extracts under ambient and accelerated storage of sunflower oil", *Grasas y Aceites*, **57**(2), pp.189-197, DOI: 10.3989/gya.2006.v57.i2.36.
- [23] B. Sultana, F. Anwar, R. Przybylski (2007), "Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees", *Food Chemistry*, **104**(3), pp.1106-1114, DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.01.019.
- [24] T.N.H. Lai, C.M. Andre, R. Chirinos, et al. (2014), "Optimisation of extraction of piceatannol from *Rhodomyrtus tomentosa* seeds using response surface methodology", *Separation and Purification Technology*, **134**, pp.139-146, DOI: 10.1016/j.seppur.2014.07.032.
- [25] R. Wang, F. Pan, R. He, et al. (2021), "Areca nut (*Areca catechu* L.) seed extracts extracted by conventional and eco-friendly solvents: Relation between phytochemical compositions and biological activities by multivariate analysis", *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **25**, DOI: 10.1016/j.jarmap.2021.100336.