



## THE RESEARCH ON THE EXTRACTION PROCESS OF TOTAL CAROTENOID FROM *PLUCHEA INDICA* LESS HARVESTED IN THAI NGUYEN PROVINCE

Dinh Thi Kim Hoa<sup>1</sup>, Nguyen Thi Tinh<sup>1</sup>, Ta Thi Luong<sup>1,2</sup>, Nguyen Van Duy<sup>1</sup>, Nguyen Thi Tra My<sup>1</sup>, Le Thi Hong Ngoc<sup>1</sup>, Nong Thi Hong Ngoc<sup>1</sup>, Vi Dai Lam<sup>1</sup>, Luu Hong Son<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>TNU - Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam

<sup>2</sup>The University of Queensland, Australia

\* Email address: [luuhongson@tuaf.edu.vn](mailto:luuhongson@tuaf.edu.vn)

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/508>

### Article info

Received:  
16/3/2021  
Accepted:  
3/5/2021

### Keywords:

*Pluchea indica* Less.  
carotenoid, extraction,  
box-behnen.

### Abstract

Carotenoid are used in foods, cosmetics and medicine. Nowadays, the main material resources are extractions from plants. The purpose of this research is to evaluate single factors: drying temperature, ratios of solution/material (ether petroleum), ultrasonic time, the temperature of extraction, effect to the extraction process of total carotenoid from *Pluchea indica* (L.) Less. The experiments gave corresponding results: 60 °C, 10/1( ml/g), 5 minutes, 60 °C. The evaluation of single factors affecting extraction conditions indicates that the factors which affect strongly to extraction process including the ratios of solution/material, ultrasonic time, and temperature of extraction. Depending on the evaluation by Box-Behnken method, the optimal condition for total carotenoid extraction from *Pluchea indica* (L.) Less is defined with the ratio of solution/material is 10.98 (ml/g); ultrasonic time is 7.04 minutes; the temperature of extraction is 61.58 °C. The amount of total carotenoid is 5.21795 mg/100g. This result is highly compatible with the model.



## NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT CAROTENOID TỔNG SỐ TỪ LÁ CÚC TÀN (*PLUCHEA INDICA* LESS.) THU HÁI TẠI THÁI NGUYÊN

Đinh Thị Kim Hoa<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Tinh<sup>1</sup>, Tạ Thị Lượng<sup>1,2</sup>, Nguyễn Văn Duy<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Trà My<sup>1</sup>, Lê Thị Hồng Ngọc<sup>1</sup>, Nông Thị Hồng Ngọc<sup>1</sup>, Vi Đại Lâm<sup>1</sup>, Lưu Hồng Sơn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên, Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Queensland, Úc

\* Địa chỉ email: [luuhongson@tuaf.edu.vn](mailto:luuhongson@tuaf.edu.vn)

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/508>

### Thông tin bài viết

Ngày nhận bài:

16/3/2021

Ngày duyệt đăng:

3/5/2021

### Từ khóa:

Cúc tàn, *Pluchea indica* (L.), carotenoid, tách chiết, Box-Behnken.

### Tóm tắt

Carotenoid tổng số đã được sử dụng nhiều trong lĩnh vực thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm. Hiện nay nguồn nguyên liệu sản xuất chính là chiết suất từ thực vật. Trên cơ sở khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến điều kiện chiết tách bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm Box-Behnken đã tìm được điều kiện tối ưu quá trình tách chiết carotenoid tổng số từ lá cúc tàn: nhiệt độ sấy nguyên liệu, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (ete dầu hỏa), thời gian siêu âm, nhiệt độ tách chiết tương ứng: 60 °C, 10/1(ml/g), 5 phút, 60 °C; tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 10,98 (ml/g), thời gian siêu âm 7,04 phút, nhiệt độ tách chiết 61,58 °C cho hàm lượng carotenoid tổng số là 5,21795 mg/100g. Kết quả thực nghiệm cho kết quả có độ tương thích cao với mô hình.

## I. MỞ ĐẦU

Cúc Tàn tên khoa học *Pluchea indica* Less. còn có nhiều tên gọi khác là cây đại ngải, phặc phà (Tày), hoa mai nã,... Cây cúc tàn là cây thuốc nam quý [1], [2]. Carotenoid là một nhóm các hợp chất thực vật thứ sinh phân bố phổ biến trong giới thực vật. Chúng được biết đến như là các hợp chất có khả năng chống oxy hóa do đó có thể có chức năng trong phòng chống lão hóa, ung thư... có nhiều trong rau, hoa quả. Vì vậy carotenoid được sử dụng nhiều trong lĩnh vực thực phẩm, dược phẩm [3]. Tuy nhiên, tách chiết và đánh giá hoạt tính carotenoid tổng số trong lá cúc tàn trường thành chưa nhiều nghiên cứu nhiều tại Việt Nam. Vì vậy, trong nghiên cứu này nhằm tối ưu quá trình tách

chiết carotenoid tổng số từ lá cúc tàn, là cơ sở cho các nghiên cứu hoạt tính tiếp theo.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây cúc tàn được thu hái vào sáng sớm của tháng 5 trong năm tại vườn thảo dược của khoa Chăn nuôi thú y - trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên. Mẫu nghiên cứu đã được định danh kết luận loài. Phần lá cây phát triển từ cây 3 năm tuổi được sử dụng để phân tích. Nguyên liệu lá cúc tàn được rửa sạch và loại bỏ phần hư dập. Toàn bộ nguyên liệu được làm khô bằng sấy đối lưu tự nhiên bằng tủ sấy Memmert UN110Plus - Đức đến độ ẩm

dưới 10%. Sau đó, nguyên liệu được bảo quản trong túi PE đặt trong hộp nhựa kín, lưu trữ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng và ẩm.

Các hóa chất và dung môi được sử dụng trong thí nghiệm đạt chuẩn PA.

Thiết bị: Tủ sấy Memmert UN110Plus - Đức, cân phân tích OHAUS - Mỹ, tủ cấy LV-VC1200 - Việt Nam, Bể siêu âm Elma S100H - Đức.

## 2.2. Bố trí thí nghiệm

Lá cúc tần bằng sấy ở nhiệt độ 50, 55, 60, 65 °C đến độ ẩm dưới 10%, sau đó chiết với tỷ lệ dung môi: nguyên liệu lần lượt là 5:1; 10:1; 15:1; 20:1 (v/w), siêu âm trong thời gian 0, 5, 10 và 15 phút ở nhiệt độ chiết 55, 60, 65, 70 °C. Sau khi tiến hành khảo sát các đơn nhân tố, chúng tôi để đánh giá khả năng ảnh hưởng của chúng, chúng tôi sử dụng phương pháp bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box - Behnken với ba yếu tố, ba cấp độ, sau đó đem phân tích hàm lượng carotenoid.

## 2.3. Xác định hàm lượng carotenoid tổng số

Phương pháp dựa trên khả năng hòa tan của carotenoid tổng số trong các dung môi hữu cơ, cường độ màu của dung dịch tỷ lệ thuận với hàm lượng carotenoid tổng số và được đo trên máy quang phổ so màu UV – VIS, model UV-2502 của hãng LABOMED – Mỹ, ở bước sóng 440 – 450 nm. Hàm lượng carotenoid tổng số (X) được biểu thị bằng mg trong 1 kg mẫu được tính theo công thức [4]:

$$X = \frac{a.0,00416.V}{m.b} .1000$$

**Bảng 1.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ sấy, tỉ lệ nguyên liệu và thời gian siêu âm tới hàm lượng carotenoid tổng số tổng số có trong lá cúc tần

CT	Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy tới hàm lượng carotenoid tổng số tổng số có trong lá cúc tần		CT	Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi chiết		CT	Ảnh hưởng của thời gian siêu âm	
	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng carotenoid tổng số (mg/100g)		Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (ml/g)	Hàm lượng carotenoid tổng số (mg/100g)		Thời gian siêu âm (phút)	Hàm lượng carotenoid tổng số (mg/100g lá tươi)
CT1	50	3,02 <sup>a</sup>	CT5	5/1	2,61 <sup>b</sup>	CT9	0	3,04 <sup>d</sup>
CT2	55	3,03 <sup>a</sup>	CT6	10/1	3,04 <sup>a</sup>	CT10	5	5,13 <sup>a</sup>
CT3	60	3,02 <sup>a</sup>	CT7	15/1	3,05 <sup>a</sup>	CT11	10	4,80 <sup>b</sup>
CT4	65	2,92 <sup>b</sup>	CT8	20/1	3,05 <sup>a</sup>	CT12	15	3,62 <sup>c</sup>

Ghi chú: Trên cùng 1 cột các giá trị mang cùng chữ số mũ thì khác nhau không có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$

Trong đó:

a - Lượng tương đương với dung dịch gốc tìm thấy trên đồ thị chuẩn, tính bằng ml

b - Thể tích của dung dịch chuẩn, tính bằng ml

0,00416 - Hệ số chuyển 1ml dung dịch gốc kali bicromat ra lượng tương đương với carotenoid tổng số (mg)

V - thể tích dịch lọc của mẫu thử sau khi qua cột hấp thụ, tính bằng ml

m - khối lượng của mẫu thử, tính bằng g

1000 - hệ số chuyển về 1 kg mẫu.

## 4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố và phân tích hậu kiểm Fisher's PLSD với mức  $P \leq 0,05$  bằng phần mềm SPSS (version 20).

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy

Từ kết quả bảng 1, nhiệt độ sấy ảnh hưởng tới hàm lượng carotenoid tổng số thu được. Khi sấy ở 55 °C thì hàm lượng carotenoid tổng số là cao nhất. Theo nghiên cứu của Hà Thị Bích Ngọc và đồng tác giả thì nhiệt độ sấy được sử dụng là từ 65 – 70 °C cho hàm lượng carotenoid tổng số thu được là cao nhất. Tác giả Đinh Thị Kim Hoa và cộng sự sử dụng nhiệt độ sấy là 60 °C. Trong nghiên cứu này công thức 55 °C và 60 °C không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với mức  $\alpha = 0,05$  [3], [5]. Vì vậy nhiệt độ 60 °C được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi chiết

Ta thấy tỷ lệ dung môi/nguyên liệu có ảnh hưởng đến quá trình chiết tách carotenoid tổng số từ nguyên liệu lá cúc tần. Khi tỷ lệ dung môi thấp thì khả năng hòa tan vào dung môi thấp, làm cho hàm lượng carotenoid tổng số thu được thấp. Tuy nhiên ở tỷ lệ dung môi/nguyên liệu 10/1 và 15/1 khả năng tách chiết được hàm lượng carotenoid tổng số không có sự chênh lệch có ý nghĩa thống kê ở mức  $\alpha = 0,05$ . Đinh Thị Kim Hoa và cộng sự cho tỷ lệ dung môi 10/1 (ml/g) [5]. Trong nghiên cứu này chúng tôi chọn tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu để tách chiết là 10/1 (ml/g).

### 3.3. Ảnh hưởng của sóng siêu âm

Sóng siêu âm có tác dụng bề gãy các liên kết hóa học, phá vỡ tế bào, hỗ trợ khả năng trích ly các chất có trong nguyên liệu [6]. Khảo sát thời gian

siêu âm ở 0, 5, 10, 15 phút với 2 yếu tố còn lại cố định: tần số 37 kHz, công suất 150 W. Qua Bảng 3 cho thấy hàm lượng carotenoid tổng số thay đổi ở các công thức khác nhau. Hàm lượng carotenoid tổng số cao nhất ở CT10 là 5,13 mg. Vì vậy, trong nghiên cứu lựa chọn thời gian siêu âm 5 phút cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.4. Ảnh hưởng nhiệt độ chiết

Tiến hành khảo sát ở các dải nhiệt độ: 55, 60, 65, 70 °C và cho thấy ở nhiệt độ chiết tách 60 °C thì cho hàm lượng carotenoid tổng số tổng thu được là lớn nhất. Đinh Thị Kim Hoa và cộng sự cho nhiệt độ chiết là 55 °C [5], sự khác nhau này có thể được giải thích bởi khác nhau về nguyên liệu và quy trình tách chiết. Trong nghiên cứu này nhiệt độ tách chiết 60 °C được lựa chọn và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết

CT	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng carotenoid tổng số tổng (mg/100g lá tươi)
CT13	55	5,12 <sup>b</sup>
CT14	60	5,14 <sup>a</sup>
CT15	65	4,53 <sup>c</sup>
CT16	70	4,48 <sup>c</sup>

Ghi chú: Trên cùng 1 cột các giá trị mang cùng chữ số mũ thì khác nhau không có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$

### 3.5. Tối ưu hóa quá trình tách chiết

**Bảng 3.** Ma trận thực nghiệm Box- Behnken ba yếu tố chiết carotenoid tổng số từ lá cúc tần

TN	Biến thực			Hàm lượng Carotenoid tổng số (mg/100g lá tươi)
	A Thời gian siêu âm (phút)	B Dung môi/ nguyên liệu (ml/g)	C Nhiệt độ chiết °C	
1	5	0	60	1,23
2	15	0	60	3,11
3	5	10	60	1,1
4	15	10	60	3,8
5	5	5	55	0,71
6	15	5	55	1,09
7	5	5	65	1,03
8	15	5	65	4,6
9	10	0	55	0,49

TN	Biến thực			Hàm lượng Carotenoid tổng số (mg/100g lá tươi)
	A Thời gian siêu âm (phút)	B Dung môi/ nguyên liệu (ml/g)	C Nhiệt độ chiết °C	
10	10	10	55	0,88
11	10	0	65	3,06
12	10	10	65	2,41
13	10	5	60	5,15
14	10	5	60	5,14
15	10	5	60	5,13
16	10	5	60	5,14
17	10	5	60	5,14

Chúng tôi sử dụng phương pháp bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box - Behnken với ba biến ba cấp độ. Các số liệu thu được từ dịch chiết lá cúc tần được xử lý trên phần mềm Design - Expert 7.0 (Stat-Ease Inc, Minneapolis, USA) ANOVA được dùng để đánh giá dịch chiết thu được. Tiến hành giải bài toán tối ưu theo phương pháp "hàm mong đợi". Sử dụng phần mềm Design-Expert 7.0 để tiến hành tối ưu hóa nhằm xác định được giá trị của ba yếu tố mà tại đó hàm lượng carotenoid tổng số là cao nhất. Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm, thu được mô hình đa

thức bậc hai thể hiện hàm lượng carotenoid tổng số:  $Y = 5,14 + 1,07*A + 0,037*B + 0,99*C + 0,21*A*B + 0,80*A*C - 0,26*B*C - 1,34*A^2 - 1,49*B^2 - 1,94*C^2$

Trong đó Y là hàm lượng carotenoid tổng số trong dịch chiết dự báo thu được.

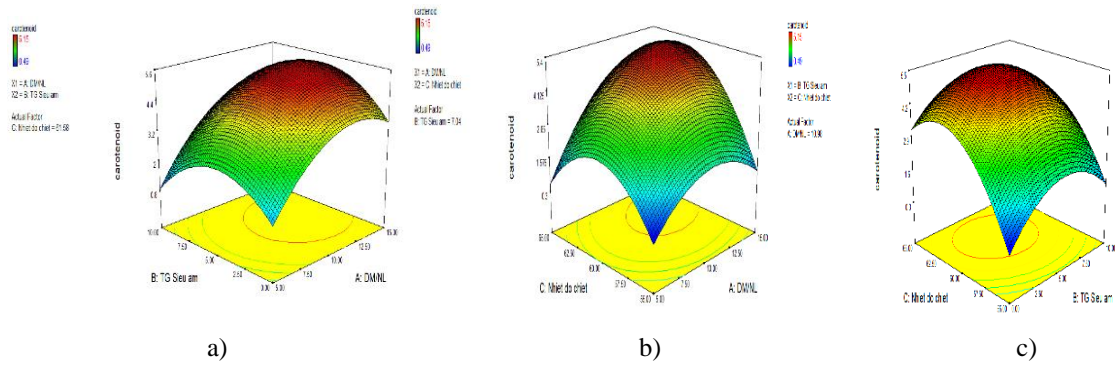
Các giá trị A, B, C lần lượt là biến thời gian siêu âm, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ chiết

Để đánh giá mô hình chúng tôi sử dụng phân tích ANOVA. Kết quả phân tích ANOVA được thể hiện qua bảng sau:

**Bảng 4.** Phân tích phương sai ANOVA của mô hình chiết carotenoid tổng số từ lá cúc tần

Nguồn	SS	DF	MS	Chuẩn F	Giá trị p
Model	56,44	9	6,27	307,04	< 0,0001
A	9,10	1	9,10	445,29	< 0,0001
B	0,011	1	0,011	0,55	0,4821
C	7,86	1	7,86	384,85	< 0,0001
AB	0,17	1	0,17	8,23	0,0240
AC	2,54	1	2,54	124,55	< 0,0001
BC	0,27	1	0,27	13,24	0,0083
A <sup>2</sup>	7,57	1	7,57	370,85	< 0,0001
B <sup>2</sup>	9,33	1	9,33	456,90	< 0,0001
C <sup>2</sup>	15,87	1	15,87	776,85	< 0,0001
Residual	0,14	7	0,020		
Lack of Fit	0,14	3	0,048	951,83	0,052
Sai số (pure error)	2E + 004	4	5E + 005		
SS tổng Số	56,58	16			

SS: Tổng phương sai; DF: bậc tự do; MS: trung bình phương sai; chuẩn F: chuẩn Fisher; Residual: phần dư; "Lack of Fit": chuẩn đánh giá độ không tương thích của mô hình với thực nghiệm. Từ kết quả phân tích ANOVA ta thấy giá trị xác suất của mô hình P-value = 0,0001 < 0,05 do đó mô hình được lựa chọn để giải thích cho kết quả của thí nghiệm, Lack of fit test = 0,052 (not significant) có ý nghĩa đối với mô hình.

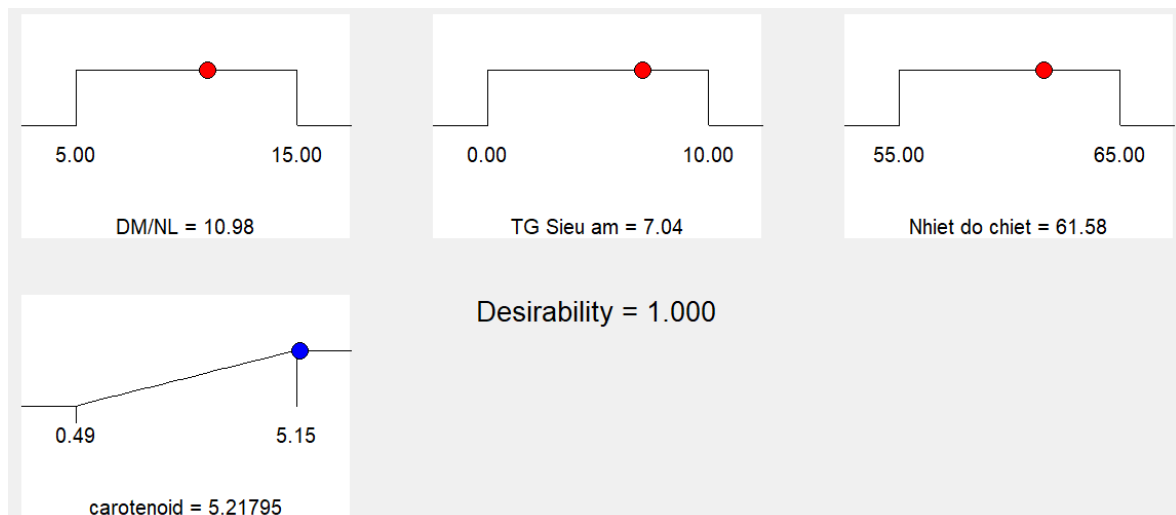


**Hình 1.** Bề mặt đáp ứng hàm lượng carotenoid tổng số

- a. Mô hình tương tác giữa tỷ lệ DM/NL và thời gian siêu âm
- b. Mô hình tương tác giữa tỷ lệ DM/NL và nhiệt độ chiết
- c. Mô hình tương tác giữa thời gian siêu âm và nhiệt độ chiết

Phương án tốt nhất được đưa ra tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 10,98 (ml/g), thời gian siêu âm 7,04 phút, nhiệt độ chiết 61,58 °C khi đó hàm lượng carotenoid tổng số đạt 5,21795 mg/100g. Kết quả kiểm tra bằng thực nghiệm cho kết quả tương ứng.

Theo O. Suriyaphan và cộng sự cho hàm lượng carotenoid tổng số đạt  $8,74 \pm 0,34$  (mg/100g lá tươi) [7]. Sự khác nhau giải thích bởi điều kiện sinh trưởng khác nhau của các tần khác nhau ảnh hưởng đến hàm lượng carotenoid tổng số.



**Hình 2.** Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu ở hàm lượng carotenoid tổng số

#### IV. KẾT LUẬN

Điều kiện tách chiết thích hợp để thu được hàm lượng carotenoid tổng số được xác định như sau: Nhiệt độ sấy 60 °C, tỉ lệ dung môi/ nguyên liệu 10/1 (ml/g), thời gian siêu âm 5 phút, nhiệt độ chiết 60 °C. Chúng tôi sử dụng phương pháp bề mặt chỉ tiêu theo thiết kế thí nghiệm của Box - Behnken với ba biến ba cấp độ cho phương án tốt nhất với tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 10,98/1 (ml/g), thời gian siêu âm 7,04 phút, nhiệt độ chiết 61,58 °C khi đó hàm lượng carotenoid tổng số đạt 5,21795 mg/100g. Kết quả kiểm tra bằng thực nghiệm có độ tương thích cao.

#### REFERENCES

- [1] The Ministry of Health. (2015). List of traditional medicines, herbal medicines and traditional medicinal herbs covered. *The health insurance fund, Issued together with Circular No. 05/2015/TT –BYT*, Vietnam.
- [2] Loi, D.T. (2014). *Vietnamese medicinal plants and herbs*. Hong Duc Publishing House, Vietnam.
- [3] Ngọc, H.T.B. (2007). Investigation of carotenoid total in some plants in Vietnam. *Scientific Journal of VNU*, 23:130-134, Vietnam.

[4] *Determination method of carotene content (TCVN 5284 - 90)*, Vietnam.

[5] Hoa, D.T.K., Son, L.H., Mai, P.N., Phuong, P.T., Chi, T.V., Chung, T.T., Trong, D.D., Luong, T.T. (2018). Study on carotenoid total extraction process from tomatoes. *Journal of Science and Technology - Thai Nguyen University*, Vietnam.

[6] Danh, T.H., Danh, L.V.Q., Quang, T.T., Tram, N.T., Tri, H.M., Nghi, T.H. (2017). The washing tank uses ultrasonic waves. *Journal of Can Tho University*, 52, Vietnam.

[7] Suriyaphan, O. (2014). Nutrition, Health Benefits and Applications of *Pluchea indica* (L.) Less Leaves. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41 (4):1-10.