

KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HÀM LƯỢNG POLYPHENOL VÀ FLAVONOID CỦA RƯỢU CHUỐI CÔ ĐƠN

Nguyễn Hoài Quốc¹, Hàng Duy Khải¹, Nguyễn Hoàng Anh¹, Đặng Bửu Tùng Thiện¹,
Lâm Bích Thảo², Trương Thị Lê Vy² và Lý Hải Triều^{2*}

¹Trung tâm Thông tin - Ứng dụng Tiến bộ Khoa học và Công nghệ Ninh Thuận

²Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh

(*Email: lhtrieu12csh@gmail.com)

Ngày nhận: 29/4/2024

Ngày phản biện: 09/5/2024

Ngày duyệt đăng: 24/6/2024

TÓM TẮT

Hạt chuối cô đơn được ngâm với rượu và được người dân sử dụng dưới dạng rượu thuốc phổ biến tại tỉnh Ninh Thuận. Tuy nhiên, quy trình sản xuất rượu chuối cô đơn còn được thực hiện theo kinh nghiệm dân gian mà chưa có quy trình chiết xuất ổn định. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng rượu chuối cô đơn. Các yếu tố được khảo sát trong nghiên cứu này bao gồm nhiệt độ (80°C, 100°C và 120°C) và thời gian (20, 30 và 40 phút) rang hạt, thời gian ngâm (15, 30 và 60 ngày), tỉ lệ ngâm (1: 2, 1: 5 và 1: 10) và nồng độ rượu (30°, 35° và 40°) thông qua đánh giá hàm lượng polyphenol tổng, flavonoid tổng và cảm quan. Kết quả nghiên cứu cho thấy hạt chuối cô đơn được rang ở 120°C trong 30 phút có mùi thơm đặc trưng, hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng cao hơn so với các điều kiện sơ chế còn lại. Màu sắc, hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng của dịch rượu tăng dần khi tăng thời gian ngâm, giảm tỉ lệ ngâm và tăng nồng độ rượu. Từ các kết quả khảo sát, điều kiện ngâm chiết rượu chuối cô đơn được đề xuất là nhiệt độ rang 120°C, thời gian rang 30 phút, thời gian ngâm 30 ngày, tỉ lệ ngâm 1: 2 và nồng độ rượu 40°. Ở điều kiện này, rượu chuối cô đơn có màu đỏ đậm, mùi thơm đặc trưng, hàm lượng polyphenol tổng là 497,57 µg GAE/ml và hàm lượng flavonoid tổng là 19,82 µg QE/ml.

Từ khóa: Rượu chuối cô đơn, flavonoid, hạt *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman, polyphenol

Trích dẫn: Nguyễn Hoài Quốc, Hàng Duy Khải, Nguyễn Hoàng Anh, Đặng Bửu Tùng Thiện, Lâm Bích Thảo, Trương Thị Lê Vy và Lý Hải Triều, 2024. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol và flavonoid của rượu chuối cô đơn. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 20: 118-129.

*ThS. Lý Hải Triều - Nghiên cứu viên Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh

1. GIỚI THIỆU

Cây chuối cô đơn (*Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman) thuộc họ Chuối (Musaceae), thường mọc trong những khu rừng hoang ở các tỉnh miền Bắc, Trung và Tây Nguyên. Tại Ninh Thuận, cây chuối cô đơn phân bố tự nhiên chủ yếu ở Vườn quốc gia Phước Bình, thuộc xã Phước Bình, huyện Bác Ái. Chuối cô đơn là một loài chuối đặc biệt, bụi chỉ có một cây, không đẻ thêm cây con, sinh sản bằng hạt, sau khi hoàn thành chu trình sinh sản sẽ tự héo rũ và chết (Joe et al., 2016). Loài này có hạt lớn, ít thịt quả nên không dùng để ăn như chuối nhà. Chính vì vậy, người dân thường chú ý và sử dụng bộ phận hạt. Hạt chuối cô đơn được dân gian ngâm rượu hoặc sắc với nước sử dụng làm thuốc chữa sỏi thận, sỏi bàng quang, tiểu gắt, đau lưng nhức khớp, đái tháo đường, phù nề, dị ứng da, táo bón và mụn nhọt (Naikawadi et al., 2022; Đỗ Huy Bích và ctv., 2007). Đặc biệt, đồng bào dân tộc Raglai thường phơi khô hoàn toàn hạt chuối cô đơn chín, rồi sao vàng hoặc nướng trên bếp hồng, sau đó cho vào bình ngâm với rượu gạo 35 - 45°, tỷ lệ 1 phần hạt 2 phần rượu, trong 1 - 2 tháng. Chuối cô đơn ngâm với rượu ủ lâu có màu vàng hổ phách, hương vị thơm rất đặc trưng, được sử dụng sau các bữa ăn.

Rượu từ hạt chuối cô đơn Phước Bình là sản phẩm đang được tiêu thụ mạnh của tỉnh Ninh Thuận nhưng cho đến nay việc tạo ra sản phẩm rượu từ hạt chuối cô đơn chủ yếu được các hộ dân tiến hành ngâm theo kinh nghiệm dân gian (thường dùng 0,5-1,0 kg hạt chuối cô đơn, rửa sạch, để ráo nước, sao vàng; sau đó ngâm chung hạt với 5 lít rượu trắng với thời gian trên

1 tháng là có thể lấy ra dùng được), mà chưa có quy trình chế biến ổn định và đồng nhất; do đó, sản phẩm tạo ra có thể chưa đảm bảo và đồng đều về chất lượng, đặc biệt là hàm lượng dược chất trong rượu chuối cô đơn. Dược liệu ngâm rượu được sử dụng ngày càng phổ biến trong cuộc sống cho mục đích bồi bổ hay chữa bệnh. Bên cạnh những loại rượu dược liệu được sản xuất theo quy trình thì còn nhiều sản phẩm rượu dược liệu được sản xuất thủ công theo kinh nghiệm của người dân. Trong đó, rượu chuối cô đơn vẫn được các hộ dân ngâm theo kinh nghiệm mà chưa có quy trình sản xuất ổn định. Trong quá trình sản xuất rượu dược liệu nói chung và rượu chuối cô đơn nói riêng, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm rượu ngâm như sơ chế, tỷ lệ ngâm, thời gian ngâm, nồng độ rượu,... Để rượu ngâm có chất lượng tốt nhất thiết phải trải qua giai đoạn sơ chế như loại bỏ tạp, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô, sao thơm, thái phiến, nghiền nhỏ hay đập vụn,... tùy từng vị. Công đoạn này rất quan trọng, quyết định chất lượng của rượu ngâm, giúp cho các hoạt chất được chiết xuất dễ dàng. Trong đó, sao (rang) dược liệu là phương pháp dùng sức nóng của lửa để làm dược liệu khô, cháy vàng xém cạnh hoặc cháy đen. Có 2 cách sao chính là sao không thêm chất khác và sao thêm chất khác (hạt chuối cô đơn thường được sao không thêm chất khác), sao cho đến khi dược liệu có màu vàng bên ngoài nhưng bên trong vẫn giữ màu như cũ, khi sao để nhỏ lửa, mục đích để dễ bảo quản dược liệu, làm dược liệu bớt tính hàn, có mùi thơm, dễ đi vào Tỳ vị theo Đông y (Nguyễn Phương Dung, 2021). Như vậy, nhiệt độ và thời gian là hai yếu tố quan

trọng ảnh hưởng đến giai đoạn sao được liệu nên được khảo sát trong nghiên cứu này.

Mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình ngâm rượu chuối cô đơn thông qua đánh giá các chỉ tiêu cảm quan và hàm lượng hoạt chất chính (polyphenol tổng và flavonoid tổng (Le et al., 2022; Ly et al., 2022; Nguyen, 2023) trong dịch rượu chuối cô đơn, kết quả nghiên cứu làm cơ sở cho định hướng phát triển và đánh giá chất lượng của sản phẩm rượu từ hạt chuối cô đơn của tỉnh Ninh Thuận.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị nguyên liệu

Hạt chuối cô đơn được cung cấp bởi Hợp tác xã Sản xuất Nông nghiệp Suối Đá, tỉnh Ninh Thuận. Hạt được tách từ những quả chuối cô đơn chín được thu ở vùng rừng núi thuộc địa bàn xã Phước Bình, huyện Bác Ái, tỉnh Ninh Thuận. Những hạt chắc được rửa sạch và phơi khô. Hạt được giữ trong túi hút chân không và bảo quản ở nơi thoáng mát.

2.2. Dung môi, hóa chất, thuốc thử

Rượu trắng 40° được sản xuất tại Trung tâm Thông tin - Ứng dụng Tiến bộ Khoa học Công nghệ tỉnh Ninh Thuận, *methanol* (Sigma-Aldrich), *acid gallic* (Sigma-Aldrich), *quercetin* (Viện kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh, QT104 140520), *thuốc thử Folin-Ciocalteu* (Sigma-Aldrich), $AlCl_3$, Na_2CO_3 (Trung Quốc) và một số hóa chất thường dùng trong phòng thí nghiệm.

2.3. Thiết kế thí nghiệm

2.3.1. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian rang hạt

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 2 yếu tố (nhiệt độ và thời gian rang) và 3 lần lặp lại. Các nghiệm thức ($3 \times 3 = 9$ nghiệm thức) được khảo sát như sau:

- Ở nhiệt độ 80°C khảo sát ở các thời gian: 20 phút, 30 phút và 40 phút.
- Ở nhiệt độ 100°C khảo sát ở các thời gian: 20 phút, 30 phút và 40 phút.
- Ở nhiệt độ 120°C khảo sát ở các thời gian: 20 phút, 30 phút và 40 phút.

Hạt sau khi rang được đánh giá các chỉ tiêu bao gồm cảm quan (màu sắc, mùi) và độ ẩm. Hạt sau khi rang ở các nghiệm thức được tiếp tục ngâm trong rượu 35° trong 15 ngày với tỉ lệ hạt/rượu là 1/5 (w/v). Rượu sau khi ngâm được đánh giá các chỉ tiêu bao gồm cảm quan (màu sắc, mùi), hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng. Từ các chỉ tiêu đánh giá trên hạt chuối đã rang và dịch rượu ngâm, thông số tối ưu cho công đoạn rang hạt được lựa chọn.

2.3.2. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian ngâm, tỉ lệ ngâm và nồng độ rượu

Hạt rang từ thông số tối ưu lựa chọn được tiếp tục ngâm chiết để khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu: dung tích rượu trắng nền, nồng độ rượu trắng nền và thời gian ngâm. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 yếu tố (thời gian ngâm, tỉ lệ ngâm và nồng độ rượu) và 3 lần lặp lại. Các nghiệm thức ($3 \times 3 \times 3 = 27$ nghiệm thức) được khảo sát như sau:

- Ngâm trong 15 ngày, tỉ lệ 1: 2, 1: 5 và 1: 10; nồng độ rượu nền: 30°, 35° và 40°.

- Ngâm trong 30 ngày, tỉ lệ 1: 2, 1: 5 và 1: 10; nồng độ rượu nền: 30°, 35° và 40°.

- Ngâm trong 60 ngày, tỉ lệ 1: 2, 1: 5 và 1: 10; nồng độ rượu nền: 30°, 35° và 40°.

Rượu sau khi ngâm được đánh giá các chỉ tiêu bao gồm cảm quan (màu sắc, độ trong), hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng. Từ kết quả đánh giá, thông số ngâm chiết tối ưu rượu chuối cô đơn được lựa chọn.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Định lượng polyphenol tổng

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (Pérez et al., 2023). Trong thành phần thuốc thử Folin-Ciocalteu có phức hợp phosphowolfram-phosphomolybdat. Phức hợp này sẽ bị khử bởi các hợp chất polyphenol tạo thành sản phẩm phản ứng

có màu xanh dương, hấp thu cực đại ở bước sóng 760 nm. Hàm lượng polyphenol có trong mẫu tỉ lệ thuận với cường độ màu và được tính theo chất chuẩn acid gallic.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn và dung dịch thử: Acid gallic được hòa tan trong nước cất và pha loãng thành các nồng độ 50, 100, 200, 400 và 800 µg/ml. Một thể tích xác định rượu chuối cô đơn được cô bay hơi hoàn toàn, phần khô còn lại được hòa tan với 5 ml nước cất.

Tạo hỗn hợp phản ứng: 0,25 ml dung dịch mẫu cần định lượng hoặc acid gallic được phản ứng với 0,5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều và để yên 5 phút. Sau đó, 0,75 ml Na₂CO₃ 20% và 3,5 ml nước cất được thêm vào, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng được giữ yên trong tối 2 giờ, độ hấp thu quang phổ (A) được đo ở bước sóng 760 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và hàm lượng polyphenol tổng của mẫu thử được ước lượng bằng hàm lượng acid gallic đương lượng (GAE) và được tính bằng công thức:

$$F(\mu\text{gGAE/ml}) = \frac{((A_t - A_{tt} - A_0) - b) \times k \times D_c}{a \times m}$$

Trong đó: F là hàm lượng polyphenol tổng số tính theo chuẩn acid gallic (µg GAE/ml), A_t là độ hấp thu của mẫu thử, A_{tt} là độ hấp thu của mẫu trắng thử, A₀ là độ hấp thu của mẫu trắng, a là hệ số trước x trong phương trình đường chuẩn acid gallic, b là hệ số tự do trong phương trình đường chuẩn acid gallic, k là độ pha loãng của mẫu thử, D_c là độ tinh khiết của chất chuẩn (98%), m là thể tích mẫu thử đem định lượng.

2.4.2. Định lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp tạt phức màu với AlCl₃ (Chandra et al., 2014). Dựa vào sự tương quan giữa độ hấp thu quang phổ của chuẩn quercetin tại bước sóng hấp thu cực đại với nồng độ quercetin (µg/ml) tương ứng trong các điều kiện xác định.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn và dung dịch thử: Quercetin được hòa tan trong

methanol và pha loãng thành các nồng độ 6,25, 12,5, 25, 50, 100 và 200 µg/ml. Một thể tích xác định rượu chuối cô đơn được cô bay hơi hoàn toàn, phần khô còn lại được hòa tan với 5 ml methanol.

Tạo hỗn hợp phản ứng: 1 ml dung dịch mẫu cần định lượng hoặc quercetin được

phản ứng với 1 ml thuốc thử AlCl_3 2%. Sau đó, 3 ml nước cất được thêm vào, lắc đều. Độ hấp thu quang phổ (A) được đo ở bước sóng 425 nm sau 15 phút ủ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và hàm lượng flavonoid tổng của mẫu thử được ước lượng bằng hàm lượng quercetin đương lượng (QE) và được tính bằng công thức:

$$F(\mu\text{g QE/ml}) = \frac{((A_t - A_{tt} - A_0) - b) \times k \times D_c}{a \times m}$$

Trong đó: F là hàm lượng flavonoid tổng số tính theo chuẩn quercetin (µg QE/ml), A_t là độ hấp thu của mẫu thử, A_{tt} là độ hấp thu của mẫu trắng thử, A_0 là độ hấp thu của mẫu trắng, a là hệ số trước x trong phương trình đường chuẩn quercetin, b là hệ số tự do trong phương trình đường chuẩn quercetin, k là độ pha loãng của mẫu thử, D_c là độ tinh khiết của chất chuẩn (98%), m là thể tích mẫu thử đem định lượng.

2.5. Phân tích dữ liệu

Các kết quả được biểu thị bằng giá trị trung bình (TB) ± độ lệch chuẩn (SD). Số liệu được thu thập bằng phần mềm MS Excel 2019 và xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism (version 8.0.2, Inc., La Jolla, CA, USA) sử dụng phép kiểm Tukey. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian rang hạt đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng

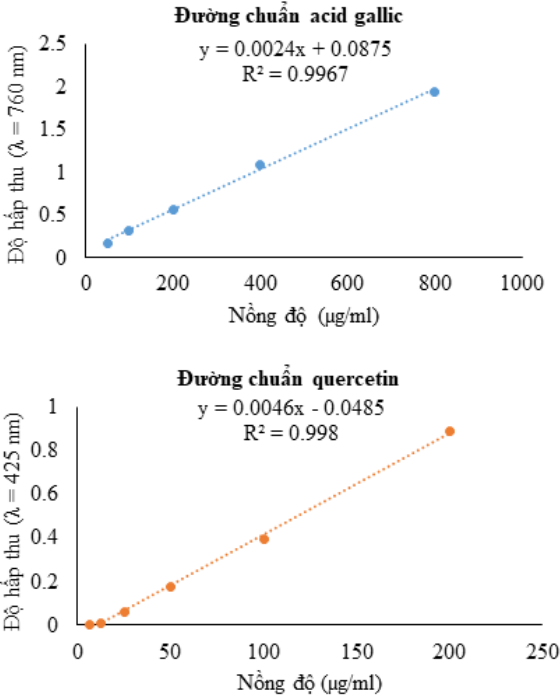
Về cảm quan, kết quả khảo sát được thể hiện ở Hình 1 cho thấy màu vàng của hạt chuối cô đơn tăng dần khi tăng dần nhiệt độ và thời gian rang, hạt chuối cô đơn được rang ở nhiệt độ 120°C trong 30 và 40 phút đều có mùi thơm đặc trưng, độ ẩm khi rang ở 40 phút thấp hơn so với độ ẩm rang ở 30 phút.

Bên cạnh đánh giá cảm quan, sự ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng được đánh giá vì đây là những nhóm hợp chất chính đã được báo cáo trong hạt chuối cô đơn (Le et al., 2022; Ly et al., 2022; Nguyen et al., 2023).

Hình 2 thể hiện đường thẳng tuyến tính thể hiện sự tương quan giữa nồng độ chất chuẩn (acid gallic hoặc quercetin) và độ hấp thu quang phổ của dung dịch chuẩn tương ứng. Phương trình đường thẳng tuyến tính của chất chuẩn acid gallic và quercetin được sử dụng để ước tính hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng trong dịch rượu chuối cô đơn. Kết quả được thể hiện trong các Bảng 1, 2, 3 và 4.



Hình 1. Kết quả đánh giá cảm quan và độ ẩm hạt chuối cô đơn sau rang

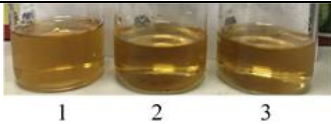
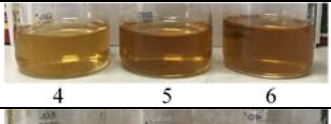
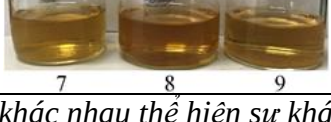


Hình 2. Đường tuyến tính chuẩn acid gallic và quercetin

Kết quả khảo sát được thể hiện ở Bảng 1 cho thấy hàm lượng polyphenol tổng trong dịch rượu ngâm từ hạt rang ở các điều kiện nhiệt độ 120°C trong 30 và 40 phút tương đương nhau ($p > 0,05$) và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các điều kiện còn lại ($p < 0,05$). Hàm lượng flavonoid tổng trong dịch rượu ngâm từ

hạt rang ở 100°C và 120°C tương đương nhau ($p > 0,05$) và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với rang ở 80°C ($p < 0,05$). Vì vậy, để tiết kiệm thời gian và nguồn năng lượng trong quá trình sơ chế, nhiệt độ và thời gian được lựa chọn rang hạt chuối cô đơn là 120°C trong 30 phút.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian rang hạt đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng

STT	Thí nghiệm	Hình ảnh dịch rượu	Hàm lượng	
			Polyphenol	Flavonoid
1	80 °C, 20 phút		55,03 ± 0,64 ^a	11,41 ± 0,43 ^a
2	80 °C, 30 phút		72,11 ± 0,87 ^b	12,94 ± 1,21 ^{ab}
3	80 °C, 40 phút		83,22 ± 0,64 ^c	13,66 ± 0,82 ^{ab}
4	100 °C, 20 phút		86,28 ± 0,64 ^d	13,88 ± 0,76 ^{abc}
5	100 °C, 30 phút		98,22 ± 0,64 ^e	14,38 ± 1,03 ^{bc}
6	100 °C, 40 phút		114,19 ± 1,05 ^f	14,60 ± 1,09 ^{bc}
7	120 °C, 20 phút		134,75 ± 0,72 ^g	14,89 ± 0,78 ^{bc}
8	120 °C, 30 phút		152,81 ± 1,05^h	16,27 ± 1,20^c
9	120 °C, 40 phút		150,31 ± 1,46 ^h	15,83 ± 0,88 ^c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.2. Các thông số tối ưu ngâm chiết hoạt chất từ hạt chuối cô đơn

Kết quả khảo sát được thể hiện ở Bảng 2, 3 và 4 cho thấy các dịch rượu ngâm trong 15 ngày ở các nồng độ rượu 30°, 35° và 40° đều có màu đậm tăng dần theo tỉ lệ 1: 10, đến 1: 5 và đậm nhất là 1: 2. Các dịch rượu ngâm trong 30 và 60 ngày ở nồng độ rượu 30°, 35° và 40° ở tỉ lệ 1: 10 có màu nhạt hơn so với hai tỉ lệ còn lại (1: 5 và 1: 2), màu của dịch rượu ở hai tỉ lệ 1: 5 và 1: 2 tương đương nhau ở các nồng độ rượu. Đồng thời, màu dịch rượu ở nồng độ rượu 30° nhạt hơn so với hai nồng độ còn lại (35° và 40°) ở các tỉ lệ, màu dịch rượu ở hai nồng độ rượu 35° và 40° tương đương nhau ở các tỉ lệ. Về hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng, dịch

rượu ngâm ở nồng độ rượu 40° theo tỉ lệ 1: 2 có hàm lượng cao nhất sau 15 ngày ngâm, dịch rượu ngâm ở nồng độ rượu 35° và 40° theo tỉ lệ 1: 2 có hàm lượng cao hơn sau 30 và 60 ngày ngâm.

Trong quá trình ngâm hạt chuối cô đơn với rượu thì hàm lượng polyphenol và flavonoid sẽ bị ảnh hưởng bởi nồng độ rượu, tỷ lệ rượu với nguyên liệu và thời gian ngâm vì khi các yếu tố này thay đổi thì hàm lượng của những hoạt chất này cũng sẽ bị thay đổi (Bảng 2, 3 và 4). Từ sự so sánh các kết quả thu được giúp ích đáng kể cho việc tìm ra điều kiện thích hợp hơn trong quá trình ngâm rượu chuối để thu được dịch rượu có hàm lượng polyphenol và flavonoid cao hơn.

Trong ngâm rượu dược liệu, loại rượu thường dùng là rượu trắng khoảng 40-60°, được cất từ gạo, ngô, cao lương, khoai,... Rượu càng cao độ thì càng dễ chiết xuất hoạt chất từ dược liệu và càng dễ bảo quản. Tuy nhiên, một số loại rượu thuốc do yêu cầu điều chế đặc thù nên có thể dùng loại rượu nhẹ hơn để ngâm. Theo kinh nghiệm dân gian, hạt chuối cô đơn thường được ngâm với rượu 35-45°. Trong giới hạn của nghiên cứu này, hạt chuối cô đơn được ngâm rượu ở các nồng độ bao gồm 30°, 35° và 40°. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ rượu tăng thì hàm lượng polyphenol và flavonoid cũng có xu hướng tăng. Chẳng hạn như, khi ngâm hạt chuối cô đơn với tỉ lệ 1: 2 trong 30 ngày, hàm lượng polyphenol ở nồng độ rượu 30°, 35° và 40° tương ứng là 480,21 µg GAE/ml, 484,51 µg GAE/ml và 497,57 µg GAE/ml; hàm lượng flavonoid tương ứng là 15,62 µg QE/ml, 17,79 µg QE/ml và 19,82 µg QE/ml (Bảng 3). Trong đó, hàm lượng khi ngâm với rượu 40° cao hơn có ý nghĩa thống kê so với ngâm với rượu 30° và 35°. Điều này có thể cho thấy khi nồng độ rượu tăng lên thì khả năng chiết được các hợp chất polyphenol và flavonoid tăng. Nồng độ rượu trên 40° cũng có thể chiết được hàm lượng cao hơn nhưng cần có những số liệu khoa học để chứng minh. Nếu hạt chuối cô đơn được ngâm với rượu trên 40° cho hàm lượng hoạt chất cao hơn thì cần lưu ý kỹ về cách sử dụng vì liên quan đến sức khỏe người sử dụng.

Từ những thông tin về ngâm rượu chuối cô đơn theo kinh nghiệm của người dân, các tỉ lệ ngâm 1: 2, 1: 5 và 1: 10 được khảo sát trong nghiên cứu này. Kết quả

cho thấy khi tăng lượng rượu ngâm thì hàm lượng polyphenol và flavonoid giảm. Chẳng hạn như, khi ngâm hạt chuối cô đơn với rượu 35° trong 30 ngày, hàm lượng polyphenol ở các tỉ lệ 1: 2, 1: 5 và 1: 10 tương ứng là 484,51 µg GAE/ml, 248,40 µg GAE/ml và 134,10 µg GAE/ml; hàm lượng flavonoid tương ứng là 17,79 µg QE/ml, 14,53 µg QE/ml và 13,80 µg QE/ml (Bảng 3). Điều này có thể do lượng polyphenol và flavonoid bị pha loãng khi tăng lượng rượu ngâm.

Khi thời gian ngâm thay đổi làm cho quá trình tiếp xúc giữa rượu và chất hòa tan trong hạt chuối cô đơn cũng thay đổi nên hàm lượng polyphenol và flavonoid thu được trong dịch rượu cũng thay đổi theo. Thời gian ngâm ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng của dịch rượu vì sự tiếp xúc giữa dung môi và chất hòa tan làm tăng khả năng thẩm tách. Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian ngâm tăng thì hàm lượng polyphenol và flavonoid tăng. Chẳng hạn như, khi ngâm hạt chuối cô đơn với rượu 35° ở tỉ lệ 1: 2, hàm lượng polyphenol sau 15, 30 và 60 ngày ngâm tương ứng là 351,18 µg GAE/ml, 484,51 µg GAE/ml và 512,15 µg GAE/ml; hàm lượng flavonoid tương ứng là 16,34 µg QE/ml, 17,79 µg QE/ml và 18,30 µg QE/ml (Bảng 2, 3 và 4). Điều này cho thấy hàm lượng polyphenol và flavonoid cũng có thể tăng khi ngâm trong thời gian lâu hơn. Tuy nhiên, theo kinh nghiệm dân gian và giới hạn của nghiên cứu, thời gian ngâm rượu chuối cô đơn chỉ giới hạn đến 60 ngày trong nghiên cứu này. Vì vậy, nghiên cứu thêm về thời gian ngâm rượu chuối cô đơn nên được thực hiện trong tương lai để có được bằng chứng việc

ngâm rượu chuối cô đơn trong thời gian dài hơn thì hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng tăng hay giảm. Theo kinh nghiệm dân gian, rượu chuối cô đơn ngâm trong 1 - 2 tháng có thể dùng được, kết hợp với kết quả trong nghiên cứu này, thời gian ngâm rượu chuối cô đơn được đề xuất là 30 ngày.

Như vậy, về nồng độ rượu, rượu 30° cho chế phẩm có màu sắc nhạt hơn và hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng thấp hơn so với hai nồng độ rượu 35° và 40°. Mặt khác, dịch chiết từ hai nồng độ rượu 35° và 40° có sự tương đồng về màu sắc và hàm lượng hoạt chất vì vậy có thể

lựa chọn rượu nồng độ 35° hoặc 40°. Về tỉ lệ ngâm, tỉ lệ ngâm 1: 10 cho chế phẩm có màu sắc nhạt hơn so với hai tỉ lệ còn lại và màu sắc hai tỉ lệ 1: 5 và 1: 2 là tương đương nhau. Mặt khác, về mặt hàm lượng hoạt chất trích ly được, tỉ lệ 1: 2 cho hàm lượng tối ưu nhất. Chính vì vậy, có thể lựa chọn ngâm ở tỉ lệ 1: 2. Về thời gian ngâm, màu sắc và hàm lượng hoạt chất của chế phẩm tăng dần theo thời gian ngâm (15 ngày, 30 ngày, 60 ngày). Mặt khác, chế phẩm được ngâm sau 30 và 60 ngày đều có hàm lượng cao hơn. Do đó, để tiết kiệm thời gian cho quá trình sản xuất có thể lựa chọn thời gian ngâm là 30 ngày.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ ngâm và nồng độ rượu đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng (sau 15 ngày ngâm)

STT	Nghiệm thức	Hình ảnh dịch rượu	Cảm quan	Hàm lượng	
				Polyphenol	Flavonoid
1	30°, 1: 10		Dịch vàng, trong	65,35 ± 0,64 ^a	11,34 ± 0,33 ^a
2	30°, 1: 5		Dịch đậm, trong	108,26 ± 0,87 ^b	12,14 ± 1,20 ^{ab}
3	30°, 1: 2		Dịch đỏ, trong	209,24 ± 0,87 ^c	14,96 ± 1,69 ^{bc}
4	35°, 1: 10		Dịch vàng, trong	107,99 ± 0,87 ^b	12,07 ± 1,21 ^{ab}
5	35°, 1: 5		Dịch đậm, trong	163,96 ± 1,25 ^d	13,80 ± 1,64 ^{abc}
6	35°, 1: 2		Dịch đỏ, trong	351,18 ± 1,27 ^e	16,34 ± 0,66 ^{cde}
7	40°, 1: 10		Dịch vàng, trong	128,96 ± 1,25 ^f	13,59 ± 0,65 ^{abd}
8	40°, 1: 5		Dịch đậm, trong	274,51 ± 1,34 ^g	14,53 ± 1,48 ^{abd}
9	40°, 1: 2		Dịch đỏ, trong	426,60 ± 1,58^h	18,88 ± 0,82^e

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ ngâm và nồng độ rượu đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng (sau 30 ngày ngâm)

STT	Thí nghiệm thứ	Hình ảnh dịch rượu	Cảm quan	Hàm lượng	
				Polyphenol	Flavonoid
1	30°, 1: 10		Dịch vàng đậm, trong	125,21 ± 1,91 ^a	13,23 ± 1,27 ^a
2	30°, 1: 5		Dịch đỏ, trong	242,99 ± 2,55 ^b	14,02 ± 0,58 ^a
3	30°, 1: 2		Dịch đỏ đậm, trong	480,21 ± 1,44 ^c	15,62 ± 1,40 ^{ab}
4	35°, 1: 10		Dịch vàng đậm, trong	134,10 ± 2,77 ^d	13,80 ± 0,58 ^a
5	35°, 1: 5		Dịch đỏ, trong	248,40 ± 2,68 ^b	14,53 ± 0,25 ^{ab}
6	35°, 1: 2		Dịch đỏ đậm, trong	484,51 ± 4,11 ^c	17,79 ± 1,53 ^{bc}
7	40°, 1: 10		Dịch vàng đậm, trong	148,26 ± 3,34 ^e	14,67 ± 0,58 ^{ac}
8	40°, 1: 5		Dịch đỏ, trong	257,57 ± 4,57 ^f	15,98 ± 1,57 ^{ac}
9	40°, 1: 2		Dịch đỏ đậm, trong	497,57 ± 3,16^g	19,82 ± 1,85^d

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ ngâm và nồng độ rượu đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng (sau 60 ngày ngâm)

STT	Thí nghiệm thứ	Hình ảnh dịch rượu	Cảm quan	Hàm lượng	
				Polyphenol	Flavonoid
1	30°, 1: 10		Dịch vàng đậm, trong	158,54 ± 5,45 ^a	14,46 ± 0,44 ^a
2	30°, 1: 5		Dịch đỏ, trong	262,43 ± 5,36 ^b	15,33 ± 0,95 ^a
3	30°, 1: 2		Dịch đỏ đậm, trong	506,04 ± 2,17 ^c	16,41 ± 1,15 ^{abc}
4	35°, 1: 10		Dịch vàng đậm, trong	162,01 ± 2,84 ^a	15,98 ± 0,10 ^{ab}
5	35°, 1: 5		Dịch đỏ, trong	298,40 ± 6,49 ^d	17,21 ± 1,24 ^{abc}
6	35°, 1: 2		Dịch đỏ đậm, trong	512,15 ± 1,58 ^c	18,30 ± 1,12 ^{bcd}
7	40°, 1: 10		Dịch vàng đậm, trong	175,49 ± 1,97 ^e	16,20 ± 0,87 ^{ab}
8	40°, 1: 5		Dịch đỏ, trong	309,10 ± 1,88 ^f	19,02 ± 1,00 ^{ce}
9	40°, 1: 2		Dịch đỏ đậm, trong	557,97 ± 0,61^g	20,47 ± 0,76^{de}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy quy trình ngâm rượu chuối cô đơn đạt chất lượng cao, tăng tổng hàm lượng polyphenol μg

GAE/ml và tổng hàm lượng flavonoid cần thực hiện như sau: Hạt chuối cô đơn được rang ở 120°C trong 30 phút, sau đó ngâm với rượu 40°, ở tỉ lệ 1: 2 (khối lượng

hạt: thể tích rượu), trong thời gian 30 ngày.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ

tỉnh Ninh Thuận đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này thuộc đề tài mã số 02/2023/HĐ-SKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, M.H., Elsohly, M.A., Khan, I.A., 2014. Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. *Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2014: 253875.
- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập và Trần Toàn, 2007. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập I. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. tr. 162.
- Nguyễn Phương Dung, 2021. Chế biến dược liệu. Nhà xuất bản Y học. tr. 9-14, 32, 38, 113-116.
- Joe, A., Sreejith, P.E., Sabu, M., 2016. Genus *Ensete* (Musaceae) in India. *Telopea Journal of Plant Systematics*, Vol. 19: 99-112.
- Le, T.K.O., Ly, H.T., Le, V.M., 2022. Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman seeds. *Journal of Medicinal Materials*, Vol. 27: 95-101.
- Ly, H.T., Khuong, H.T., Do, T.G., Nguyen, T.P., Phan, T.A.D., 2022. Extraction and Phytochemical Composition of *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman Fruits in Bu Gia Map National Park, Binh Phuoc Province. *Journal of Technical Education Science*, Vol. 70B: 116-120.
- Naikawadi, V., Devikar, S., Shirke, H., Naikawadi, V., Penna, S., Nikam, T., 2022. Wild banana (genus *Ensete*) - An underutilised plant as source of food, fodder, fibre and medicine and need for biotechnological interventions. *Crop and Pasture Science*, Vol. 74: 925-943.
- Nguyen, L.N., Vo, P.A.T., Vong, B.L., Ly, H.T., Khuong, H.T., Nguyen, T.T.H., Le, D.T., Pham, V.T., Phan, T.A.D., 2023. The first study on the bioactivities of *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman, The 8th analytica Vietnam Conference, Vietnam National University Press, Hanoi, 321-328.
- Pérez M., Dominguez-López I., Lamuela-Raventós R. M., 2023. The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.71: 17543-17553.

FACTORS AFFECTING THE TOTAL POLYPHENOL AND FLAVONOID CONTENTS OF CHUOI CO DON LIQUOR

Nguyen Hoai Quoc¹, Hang Duy Khai¹, Nguyen Hoang Anh¹, Dang Buu Tung Thien¹,
Lam Bich Thao², Truong Thi Le Vy² and Ly Hai Trieu^{2*}

¹Ninh Thuan Science and Technology Application Center

²Ho Chi Minh City Research Center of Ginseng and Medicinal Materials

(*Email: lhtrieu12csh@gmail.com)

ABSTRACT

Chuoi co don (Ensete glaucum) seeds are soaked with wine and have been commonly used by people in Ninh Thuan province. However, the process of producing Chuoi co don liquor is still done according to folk experience without a stable extraction process. Therefore, the objective of this study was to investigate some factors affecting the quality of Chuoi co don liquor. Factors investigated in this study included temperature (80°C, 100°C and 120°C) and time (20, 30 and 40 minutes) of roasting seeds, soaking time (15, 30 and 60 days), soaking ratio (1: 2, 1: 5 and 1: 10) and alcohol concentration (30°, 35° and 40°) through assessment of total polyphenol content, total flavonoid content and sensory perception. Results showed that E. glaucum seeds roasted at 120°C for 30 minutes had a characteristic aroma and higher total polyphenol and flavonoid content compared to the remaining processing conditions. The color, total polyphenol and flavonoid contents of Chuoi co don liquor gradually increased with increasing soaking time, decreasing soaking ratio, and increasing alcohol concentration. From the survey results, the proposed soaking conditions for Chuoi co don liquor were roasting temperature of 120°C, roasting time of 30 minutes, soaking time of 30 days, soaking ratio of 1: 2, and alcohol concentration of 40°. Under this condition, Chuoi co don liquor had a dark red color, a characteristic aroma, a total polyphenol content of 497.57 µg GAE/mL and a total flavonoid content of 19.82 µg QE/mL.

Keywords: Chuoi co don liquor, ensete glaucum (Roxb.) Cheesman seeds, flavonoids, polyphenols