

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.084

ẢNH HƯỞNG CỦA DUNG MÔI VÀ PHƯƠNG PHÁP TRÍCH LY ĐẾN KHẢ NĂNG CHIẾT TÁCH CÁC HỢP CHẤT PHENOLICS, SAPONINS VÀ ALKALOIDS TỪ VỎ QUẢ CÀ CAO (*Theobroma cacao* L.)

Nguyễn Văn Tạng^{1,2}, Trần Thanh Giang², Huỳnh Quốc Trung², Phan Thị Bích Trâm², Phạm Châu An³ và Trần Thị Mỹ Hạnh^{1,2}

¹Nhóm nghiên cứu phát triển và giảng dạy Thực phẩm chức năng, Trường Đại học Nha Trang

²Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

³Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tỉnh Bến Tre

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Văn Tạng (email: tangnv@ntu.edu.vn)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the influence of extraction solvents (water, ethanol, methanol, ethyl acetate, chloroform, acetone and n-hexane) and extraction methods (conventional, microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction) on the extractability of phenolics, saponins and alkaloids compounds from cacao pod husk. The results showed that among seven extraction solvents tested, methanol and n-hexane achieved the highest amounts of phenolics and alkaloids, respectively but they were not significantly different from water ($P < 0.05$). Meanwhile, methanol obtained the greater level of saponins as compared to other solvents. Between three extraction methods studied, microwave-assisted extraction gave the maximum contents of phenolics and saponins, which were significantly higher than those from other methods ($P < 0.05$). However, ultrasound-assisted extraction gained the higher amount of alkaloids compared to other methods. Therefore, water and methanol are suggested to extract the phenolics and alkaloids, and saponins, respectively, while microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction are recommended to recover the phenolics and saponins, and alkaloids, respectively.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định ảnh hưởng của dung môi (nước, ethanol, methanol, ethyl acetate, chloroform, acetone và n-hexane) và phương pháp trích ly (truyền thống, hỗ trợ siêu âm, hỗ trợ vi sóng) đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và alkaloids từ vỏ quả cà cao. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng trong số 07 dung môi thử nghiệm thì methanol và n-hexane có khả năng chiết tách hợp chất phenolics và alkaloids tốt nhất nhưng không có sự khác biệt đáng kể so với nước ($P < 0,05$), trong khi đó, methanol là dung môi có khả năng chiết tách hợp chất saponins tốt hơn so với các dung môi còn lại. Giữa 03 phương pháp trích ly khảo sát thì trích ly hỗ trợ vi sóng có khả năng chiết tách hợp chất phenolics và saponins hiệu quả nhất và có sự khác biệt đáng kể so với 02 phương pháp còn lại ($P < 0,05$), tuy nhiên trích ly hỗ trợ siêu âm có khả năng chiết tách hợp chất alkaloids hiệu quả hơn so với 02 phương pháp còn lại. Vì vậy, nghiên cứu này đề xuất sử dụng nước để chiết tách hợp chất phenolics và alkaloids, còn methanol để chiết tách hợp chất saponins; trích ly hỗ trợ vi sóng để chiết tách hợp chất phenolics và saponins, còn trích ly hỗ trợ siêu âm để chiết tách hợp chất alkaloids từ vỏ quả cà cao.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/04/2020

Ngày nhận bài sửa: 12/06/2020

Ngày duyệt đăng: 28/08/2020

Title:

The effect of solvents and extraction methods on the extractability of phenolics, saponins and alkaloids compounds from cacao pod husk (*Theobroma cacao* L.)

Từ khóa:

Chiết tách, dung môi, hoạt chất sinh học, phương pháp trích ly, vỏ quả cà cao

Keywords:

Bioactive compounds, ca cao pod husk, extraction, extraction method, solvent

Trích dẫn: Nguyễn Văn Tạng, Trần Thanh Giang, Huỳnh Quốc Trung, Phan Thị Bích Trâm, Phạm Châu An và Trần Thị Mỹ Hạnh, 2020. Ảnh hưởng của dung môi và phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và alkaloids từ vỏ quả cà cao (*Theobroma cacao* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(4B): 71-78.

1 GIỚI THIỆU

Sản lượng ca cao (*Theobroma cacao* L.) của Việt Nam năm 2018 đạt 5.704 tấn, năng suất bình quân đạt 12 tạ hạt khô/ha (Newman and Cragg, 2007), mang lại nguồn lợi lớn cho sản xuất hạt ca cao phục vụ sản xuất chocolate. Tuy nhiên, cùng với sản lượng tăng cao thì lượng vỏ thải bỏ ra môi trường cũng ngày càng nhiều. Vỏ quả ca cao chiếm từ 67 – 76% khối lượng quả, trong quá trình chế biến ca cao, cứ 500 tấn hạt/năm sẽ tạo ra 2.500 tấn vỏ quả tươi, 50 tấn vỏ hạt khô (Newman *et al.*, 2003). Như thế, mỗi năm lượng vỏ thải bỏ lên tới hơn 25.000 tấn vỏ quả tươi, gây lãng phí và ô nhiễm môi trường. Gần đây, đã có một số nghiên cứu tận thu nguồn phế liệu này như: làm bột và thức ăn hỗn hợp dạng đông bánh cho bò (Newman *et al.*, 2003), làm thức ăn cho gà nuôi lấy thịt (Donkoh *et al.*, 1991), sản xuất phân hữu cơ (Huang *et al.*, 2003), và sản xuất than hoạt tính (Rachmat *et al.*, 2018).

Vỏ quả ca cao cũng như các nguồn thực vật khác rất giàu các hoạt chất sinh học phenolics, kháng sinh thực vật như saponins và alkaloids. Ngày nay, nghiên cứu thu nhận các hoạt chất sinh học từ thực vật, đặc biệt là các nguồn phế liệu để sử dụng cho các mục đích y học hoặc bổ sung vào thực phẩm chức năng đang ngày càng nhiều, vừa đáp ứng nhu cầu thiếu hụt, vừa giải quyết được lượng phế liệu này.

Trích ly là quá trình phổ biến để phân tách các chất có hoạt tính sinh học từ nguyên vật liệu (Chew *et al.*, 2011). Quá trình trích ly phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có dung môi và phương pháp trích ly. Việc lựa chọn dung môi phải dựa vào mục đích trích ly, độ phân cực của dung môi, tính phân cực của hoạt chất sinh học cần trích ly, chi phí, an toàn cho người sử dụng và môi trường,... Các dung môi acetone, ethanol và methanol đã được sử dụng rộng rãi để chiết xuất các thành phần polyphenol từ nguyên liệu thực vật, đặc biệt là các loại thảo mộc và cây thuốc (Tabart *et al.*, 2007, Wang *et al.*, 2008). Các phương pháp trích ly truyền thống (ngâm chiết, chiết Soxhlet, chiết ngâm kiệt,...) có nhược điểm là thời gian thực hiện kéo dài, yêu cầu về độ tinh khiết của dung môi cao, sử dụng lượng dung môi lớn, gây ô nhiễm môi trường và có thể phân hủy các hoạt chất sinh học nhạy cảm với nhiệt độ,... Do đó, nhiều phương pháp trích ly ưu việt như trích ly hỗ trợ siêu âm, trích ly hỗ trợ vi sóng, ... đã được phát triển và áp dụng hiệu quả. Chẳng hạn như, trích ly hỗ trợ siêu âm và vi sóng có ảnh hưởng tốt đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và hoạt tính chống oxy hóa của chúng từ cây diệp hạ châu và cây

Xáo tam phân (Nguyen *et al.*, 2015, Nguyen *et al.*, 2016).

Do đó, nghiên cứu này tập trung nghiên cứu ảnh hưởng của 07 dung môi và 03 phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách một số nhóm hoạt chất sinh học (phenolics, saponins và alkaloids) từ vỏ quả ca cao. Từ đó, lựa chọn được dung môi và phương pháp trích ly phù hợp nhất để chiết tách các hoạt chất sinh học từ vỏ quả ca cao cho các nghiên cứu và ứng dụng tiếp theo.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu, hóa chất và thiết bị

2.1.1 Vật liệu

Vỏ quả ca cao (*Theobroma cacao* L.) được mua từ xã Thành Triệu, huyện Châu Thành, tỉnh Bến Tre vào tháng 12 năm 2018. Vỏ quả ca cao được lấy ngay sau khi tách hạt khỏi quả và được bảo quản trong thùng xốp phủ đá khô trong khi vận chuyển về Nha Trang và bảo quản đông ở -20°C đến khi sử dụng.

2.1.2 Hóa chất và thiết bị

Hóa chất

Các hóa chất sử dụng đạt chuẩn phân tích gồm: thuốc thử Folin-Ciocalteu, vanillin, methanol, chloroform, ethyl acetate, ethanol, hexane và acetone (Sigma-Aldrich); thuốc thử Bromocresol green, Na₂CO₃, H₂SO₄, NaOH, Na₂HPO₄ và HCl (Shanghai Lanji Technology Development Co., Ltd.); atropine, gallic acid và escin (Shanghai Zhanyun Chemical Com., Ltd.).

Thiết bị

Cân phân tích độ chính xác 0,0001 g, máy nghiền khô kích thước bột ≤ 1,4 mm, bể ôn nhiệt, bể chiết siêu âm Branson 2510 (100 W, 40 kHz), lò vi sóng Electrolux EMS 3067X (900 W), máy ly tâm, máy quang phổ kế (UV- VIS) Libra S50.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chuẩn bị mẫu khô

Trước khi sử dụng, vỏ ca cao được rửa đông ở nhiệt độ phòng, sau đó cắt thành từng lát mỏng với kích thước từ 2 đến 3 cm và sấy bằng lò vi sóng ở 720 W (80% công suất là điều kiện sấy vi sóng phù hợp nhất) đến khối lượng không đổi. Mẫu sau khi sấy khô sẽ được xay nhỏ bằng máy nghiền khô tới kích thước ≤ 1,4 mm. Mẫu sau khi xay được đựng trong túi zip PA và bảo quản trong tủ đông ở -20°C đến khi sử dụng.

2.2.2 Xác định độ ẩm của mẫu khô

Sấy cốc trong tủ sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi, dùng cân phân tích xác định khối lượng cốc m_0 (g). Cho một lượng bột vỏ ca cao nhất định vào cốc sấy, đem đi cân trên cân phân tích, ghi nhận khối lượng, khi đó tổng khối lượng cốc và mẫu là m_1 (g). Tiếp theo, đặt cốc sấy vào tủ sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi (trong 5 tiếng). Sau đó, lấy cốc sấy cho vào bình hút ẩm khoảng 30 phút, cân cốc mẫu đã sấy. Khi đó, khối lượng cốc và mẫu sấy là m_2 (g) (AOAC, 1998).

Kết quả tính độ ẩm (W):

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 (\%)$$

Trong đó:

m_0 : Khối lượng cốc sau khi sấy đến khối lượng không đổi (g)

m_1 : Khối lượng cốc và mẫu trước khi sấy (g)

m_2 : Khối lượng cốc và mẫu sau khi sấy đến khối lượng không đổi (g)

2.2.3 Bố trí thí nghiệm trích ly mẫu khô

Ảnh hưởng của dung môi trích ly

Cân 0,5 g mẫu khô cho vào ống nghiệm có nắp dung tích 50 ml (mỗi dung môi lặp lại 3 lần). Sau đó, cho 25 ml dung môi vào mỗi ống, để tất cả các ống ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, tiếp theo cho vào trong bể ổn nhiệt giữ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 55°C. Kết thúc 30 phút, lấy các ống ra khỏi bể và ngâm vào thau nước đá để làm lạnh nhanh đến nhiệt độ phòng nhằm ngưng quá trình trích ly. Sau đó, đem các ống đi ly tâm trong máy ly tâm ở tốc độ 5500 vòng/phút trong 15 phút để thu dịch chiết. Dịch chiết được chứa trong ống nghiệm dung tích là 50 ml, thêm dung môi tương ứng vào để định lượng về cùng một thể tích 50 ml để dễ tính toán về sau, đậy nắp kín. Dịch chiết được bảo quản ở -20°C để ổn định cho việc xác định hoạt chất sinh học (Nguyen *et al.*, 2015, Nguyen *et al.*, 2016).

Ảnh hưởng của phương pháp trích ly

Cân 0,5 g mẫu khô cho vào ống nghiệm có nắp dung tích 50 ml, thêm vào đó 25 ml nước cất, ngâm ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, tiến hành trích ly theo từng phương pháp dựa trên các nghiên cứu trước (Nguyen *et al.*, 2016a, Nguyen *et al.*, 2015) và các thí nghiệm thăm dò như sau:

Trích ly truyền thống bằng cách ngâm hỗn hợp trong bể ổn nhiệt ở 60°C trong 30 phút. Trích ly hỗ trợ vi sóng với công suất vi sóng 450 W, thời gian

bức xạ 10 s/phút và thời gian trích ly 30 phút. Trích ly hỗ trợ siêu âm với công suất siêu âm 100 W ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 30 phút.

Sau khi trích ly, dịch chiết được làm lạnh nhanh bằng nước đá tới nhiệt độ phòng, sau đó ly tâm ở tốc độ 5.500 vòng/phút trong 15 phút. Sau khi ly tâm xong, dịch chiết được chứa trong ống nghiệm 50 ml và được định lượng về 25 ml bằng nước cất để dễ tính toán về sau. Dịch chiết sau khi trích ly được bảo quản ở -20°C để ổn định cho việc xác định hoạt chất sinh học.

2.2.4 Phương pháp phân tích hàm lượng các hoạt chất sinh học của vỏ quả ca cao

Phân tích hàm lượng phenolics tổng số

Lấy 0,5 ml dịch chiết trộn với 2,5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% (v/v) trong nước cất, để ổn định trong 6 phút. Sau đó, thêm vào 2 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5% (w/v) trong nước cất và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở 765 nm sử dụng máy quang phổ UV-Vis. Gallic acid được sử dụng làm chất chuẩn. Hàm lượng phenolics tổng số được biểu diễn tương đương với mg acid gallic/g mẫu khô (mg GAE/g mẫu khô) (Singleton *et al.*, 1999).

Phân tích hàm lượng saponins tổng số

Lấy 0,25 ml dịch chiết trộn với 0,25 ml dung dịch vanillin 8% (w/v) trong methanol 100%. Sau đó, thêm 2,5 ml dung dịch H_2SO_4 72% (v/v) vào hỗn hợp. Hỗn hợp được ủ ở 70°C trong 10 phút và làm lạnh nhanh trong chậu nước đá đến nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 560 nm sử dụng máy quang phổ UV-Vis. Escin được sử dụng làm chất chuẩn. Hàm lượng saponin được biểu diễn tương đương với mg escin/g mẫu khô (mg EE/g mẫu khô) (Vuong *et al.*, 2013).

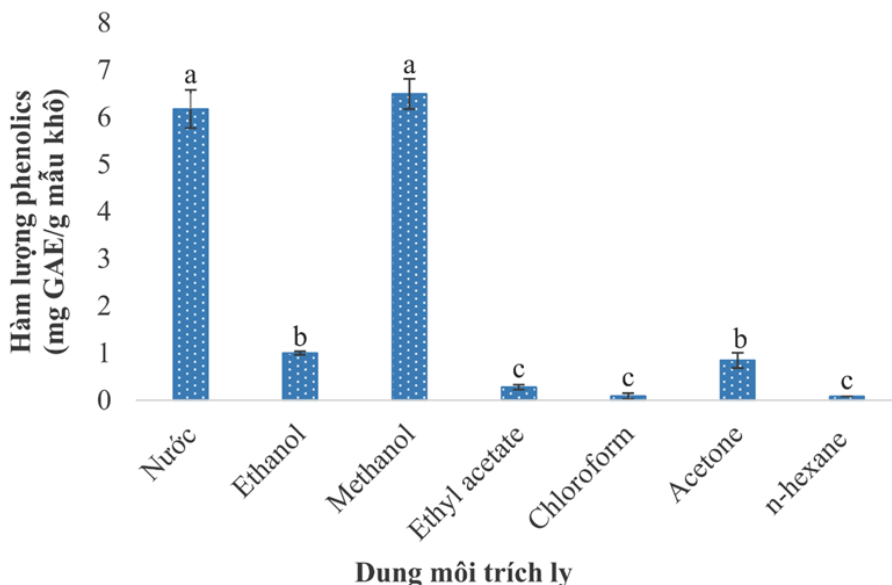
Phân tích hàm lượng alkaloids tổng số

Dung dịch Bromocresol green được chuẩn bị bằng cách gia nhiệt 69,8 mg bromocresol green với 3 ml dung dịch NaOH 2N và 5 ml nước cất đến khi hòa tan hoàn toàn, sau đó dung dịch được pha loãng tới 1.000 ml bằng nước cất. Dung dịch đệm phosphate (pH=7,4) được chuẩn bị bằng cách hiệu chỉnh pH của sodium phosphate 2 M (71,6 g Na_2HPO_4 trong 1 L nước cất) tới pH=4,7 bằng acid citric 0,2 M (42,02 g acid citric trong 1 L nước cất). Dung dịch chuẩn Atropine được chuẩn bị bằng cách hòa tan 1 mg atropine tinh khiết trong 10 ml nước cất.

Tiếp theo, dịch chiết khô được hòa tan vào HCl 2N và lọc, sau đó chuyển 1 ml dung dịch này vào phễu chiết và rửa bằng 10 ml chloroform (3 lần). Điều chỉnh pH của dung dịch này tới trung tính bằng NaOH 0,1 N. Sau đó, thêm vào dung dịch này 5 ml dung dịch Bromocresol green và 5 ml đệm photphat đã chuẩn bị ở trên. Hỗn hợp được lắc và trích ly hoàn toàn với 1, 2, 3 và 4 ml chloroform, dịch chiết được gom vào bình định mức 10 ml và pha loãng bằng chloroform. Độ hấp thụ của hỗn hợp trong chloroform được đo ở bước sóng 470 nm bằng máy quang phổ UV-VIS. Hàm lượng alkaloids tổng số được biểu diễn tương đương với mg atropine/g chất khô (mg AE/g mẫu khô) (Ajanal *et al.*, 2012).

2.3 Xử lý số liệu thực nghiệm

Tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) phiên bản 22.0 và giá trị được thể hiện là trung bình ± độ lệch chuẩn (n = 3). So sánh thống kê được thực hiện bằng phân tích phương sai một chiều One-way ANOVA và kiểm định Duncan. Giá trị $P < 0.01$ chỉ ra có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê.



Hình 1: Ảnh hưởng của dung môi đến khả năng chiết hợp chất phenolics từ vỏ quả ca cao

Ghi chú: GAE: gallic acid equivalents (tương đương với gallic acid). Các chữ cái khác nhau trên mỗi cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$).

Kết quả này có thể được lý giải là do các phân tử hợp chất phenolics và saponins mang nhiều nhóm phân cực, do đó chúng hòa tan tốt trong các dung môi phân cực mạnh là methanol và nước (phân ánh bằng độ phân cực tương ứng là 5,1 và 9,0 và hằng số điện môi tương ứng là 32,63 và 78,54). Kết quả

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của dung môi trích ly đến khả năng chiết tách các hoạt chất sinh học từ vỏ quả ca cao

Kết quả ảnh hưởng của dung môi trích ly đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và alkaloids từ vỏ quả ca cao được trình bày ở Hình 1-3.

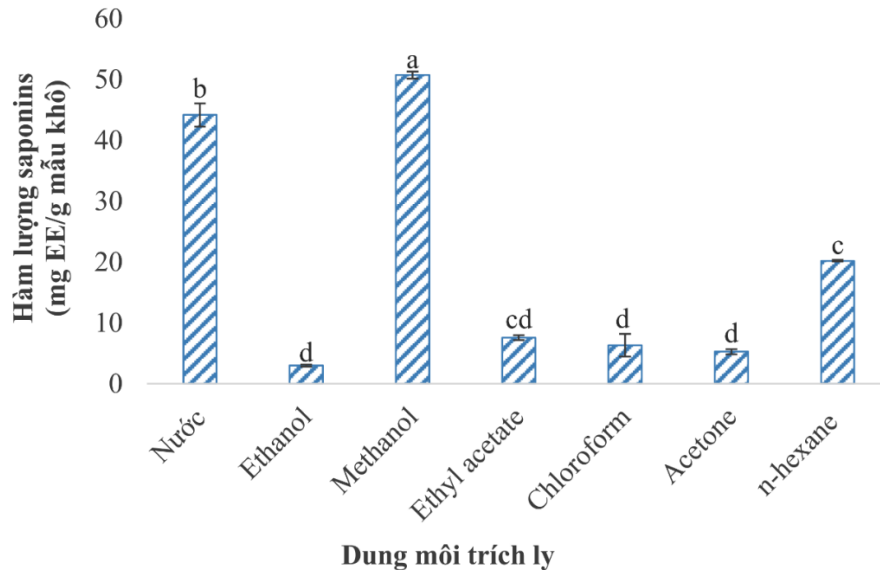
Kết quả ở Hình 1 cho thấy đối với hợp chất phenolics thì nước và methanol là hai dung môi cho hiệu quả trích ly cao nhất và không có sự khác biệt đáng kể, cụ thể là hàm lượng phenolics trích by bằng methanol là 6,491 mg GAE/g và bằng nước là 6,170 mg GAE/g. Đối với hợp chất saponins thì methanol và nước là hai dung môi có khả năng trích ly tốt nhất, tuy nhiên hàm lượng saponins đạt được khi trích ly bằng methanol (50,711 mg EE/g) cao hơn đáng kể so với khi trích ly bằng nước (44,152 mg EE/g), trong khi các dung môi khác có hiệu quả thu hồi thấp đáng kể so với hai dung môi trên (Hình 2).

này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây tìm thấy methanol và nước là dung môi có hiệu quả trích ly các hợp chất này cao nhất. Các dung môi còn lại là dung môi phân cực kém hơn, vì vậy khả năng hòa tan hợp chất phenolics và saponins thấp hơn (độ phân cực của ethanol, ethyl acetate, chloroform,

acetone, n-hexane lần lượt là 5,2; 4,4; 4,1; 5,1; 0,0 và hằng số điện môi tương ứng là 24,6; 6,0; 4,81; 20,7; 1,89) (Nguyen *et al.*, 2015, Widyawati *et al.*, 2014).

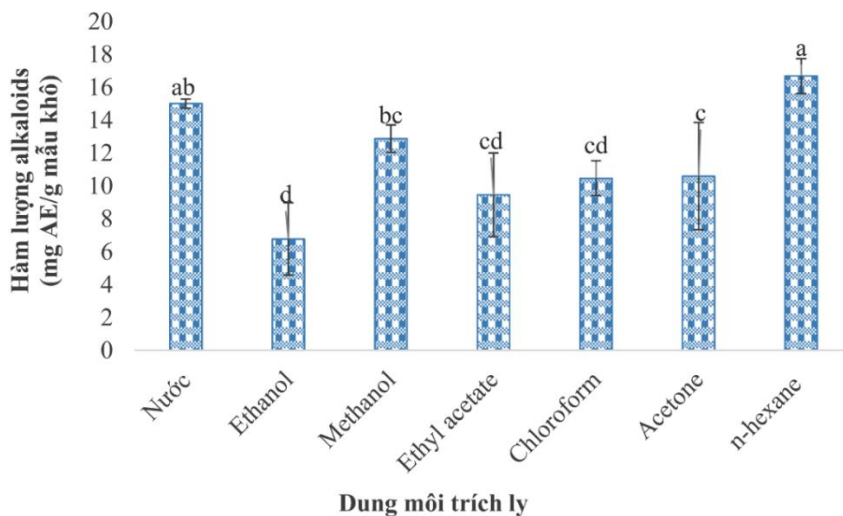
Kết quả thu được ở Hình 3 cho thấy đối với hợp chất alkaloids thì n-hexane có khả năng trích ly cao nhất (16,677 mg AE/g), sau đó là nước (15,004 mg AE/g) và methanol (12,868 mg AE/g). Về tính chất, alkaloids trong vỏ ca cao chủ yếu là các hợp chất theobromin, caffeine (Nguyen and Nguyen, 2016) có

tính kiềm, do chứa nguyên tử nitơ trong phân tử, không phân cực (Madhumitha, 2015), chính vì vậy nên n-hexane không phân cực (độ phân cực bằng 0,0 và hằng số điện môi bằng 1,89) có thể hòa tan tốt nhất alkaloids, tiếp theo là nước, methanol, acetone, chloroform, ethyl acetate và ethanol. Như vậy, tương tự như khi trích ly hợp chất phenolics và saponins, các dung môi ethanol, ethyl acetate, chloroform và acetone cũng thể hiện khả năng trích ly alkaloids kém hơn so với nước và methanol.



Hình 2: Ảnh hưởng của dung môi đến khả năng chiết hợp chất saponins từ vỏ quả ca cao

Ghi chú: EE: escin equivalents (tương đương với escin). Các chữ cái khác nhau trên mỗi cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$).



Hình 3: Ảnh hưởng của dung môi đến khả năng chiết hợp chất alkaloids từ vỏ quả ca cao

Ghi chú: AE: atropine equivalents (tương đương với atropine). Các chữ cái khác nhau trên mỗi cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$).

Dựa trên các kết quả phân tích ở trên, để đạt khả năng trích ly cao, an toàn cho người và môi trường trong quá trình chiết tách cũng như khi sử dụng trong thực phẩm và dược phẩm, đồng thời giảm chi phí dung môi thì chọn nước là dung môi để chiết tách hợp chất phenolics và alkaloids, còn methanol là dung môi để chiết tách hợp chất saponins cho nghiên cứu tối ưu hóa các thông số trích ly tiếp theo..

3.2 Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách các hoạt chất sinh học từ vỏ quả ca cao

Kết quả ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách các hoạt chất sinh học từ vỏ quả ca cao được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1: Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến khả năng chiết các hoạt chất sinh học từ vỏ quả ca cao

Phương pháp chiết	Phenolics (mg GAE/g mẫu khô)	Saponins (mg EE/g mẫu khô)	Alkaloids (mg AE/g mẫu khô)
Trích ly truyền thống	6,082 ± 0,196 ^b	45,291 ± 1,396 ^b	13,848 ± 1,211 ^b
Trích ly hỗ trợ siêu âm	6,347 ± 0,376 ^{ab}	47,681 ± 4,093 ^b	24,482 ± 1,392 ^a
Trích ly hỗ trợ vi sóng	7,257 ± 0,788 ^a	60,577 ± 4,911 ^a	14,387 ± 0,464 ^b

Ghi chú: GAE: gallic acid equivalents (tương đương với gallic acid); EE: escin equivalents (tương đương với escin); AE: atropine equivalents (tương đương với atropine). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% ($P < 0,05$).

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy trích ly hỗ trợ vi sóng có khả năng thu hồi hợp chất phenolics và saponins (7,257 mg GAE/g mẫu khô và 60,577 mg EE/g mẫu khô) cao hơn đáng kể so với trích ly hỗ trợ siêu âm (6,347 mg GAE/g mẫu khô và 47,681 mg EE/g mẫu khô) và trích ly truyền thống (6,082 mg GAE/g mẫu khô và 45,291 mg EE/g mẫu khô). Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu chiết tách hợp chất phenolics từ cây diệp hạ châu (Nguyen *et al.*, 2016a) và capsaicin từ quả ớt (Trần Anh Khoa và *ctv.*, 2016) bằng trích ly hỗ trợ vi sóng. Kết quả này có thể được giải thích là do trích ly hỗ trợ vi sóng tác động lên các phân tử phân cực (như nước), làm cho chúng quay cực nên gây ra các điểm tăng nhiệt độ cục bộ bên trong vật liệu, dẫn đến phá hủy cấu trúc tế bào, tạo ra sự dịch chuyển các hợp chất có tính phân cực mạnh như phenolics và saponins ra bên ngoài và hòa tan vào dung môi nước. Tuy nhiên, các alkaloids có tính phân cực kém hơn nên khả năng hòa tan vào dung môi nước kém hơn, dẫn đến hiệu quả trích ly hỗ trợ vi sóng đối với hợp chất alkaloids kém hơn (Nguyen *et al.*, 2015).

Đối với hợp chất alkaloids, trích ly hỗ trợ siêu âm có khả năng thu hồi cao hơn đáng kể (24,482 mg AE/g mẫu khô) so với trích ly hỗ trợ vi sóng và trích ly truyền thống (14,387 và 13,848 mg AE/g mẫu khô), đặc biệt trích ly hỗ trợ vi sóng không có hiệu quả khác biệt so với trích ly truyền thống đối với hợp chất alkaloids. Kết quả này có thể được giải thích là do siêu âm tạo hiệu ứng sinh học theo cả hai cơ chế nhiệt và phi nhiệt, trong đó cơ chế nhiệt là sự tăng nhiệt độ bởi sóng siêu âm (tần số 20 kHz-100 MHz) dẫn tới sự hấp thụ hoặc tán xạ, trong khi cơ chế phi nhiệt là do âm thanh (sóng âm-sóng siêu âm)

dẫn tới sự hình thành bóng khí, khi bóng khí bị phá vỡ sinh ra nhiệt độ cao (~ 5000 K), áp suất lớn (~ 1000 atm) và tốc độ làm nóng/nguội lớn (~ 1010 K/s) (Nguyen *et al.*, 2016a, Azmir *et al.*, 2013), từ đó làm tăng khả năng hòa tan hợp chất alkaloids (hợp chất có tính phân cực kém hơn các hợp chất phenolics và saponins) vào dung môi, dẫn đến hiệu quả trích ly hỗ trợ siêu âm cao hơn trích ly truyền thống và trích ly hỗ trợ vi sóng. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy khi trích ly quercetin từ hành tím, theo đó hàm lượng quercetin thu được bằng trích ly hỗ trợ siêu âm cao hơn 19% so với trích ly truyền thống (Nguyễn Minh Thủy và *ctv.*, 2018). Hoạt tính sinh học có liên quan trực tiếp đến các hợp chất được chiết tách, Wirasathien *et al.* (2006) đã chứng minh khả năng chống bệnh lao, sốt rét và gây độc tế bào ung thư của alkaloids chiết từ cây *Pseuduvaria setosa*, trong khi Rinaldi *et al.* (2017) đã chỉ ra khả năng kháng khuẩn và gây độc tế bào ung thư của alkaloids chiết từ cây *Annona hypoglauca* Mart.

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu về điều kiện trích ly giúp tăng cường khả năng thu hồi các hoạt chất sinh học và giảm thiểu sử dụng các loại dung môi độc hại, từ đó dẫn đến tăng sản lượng và giảm giá thành các loại hợp chất này. Kết quả nghiên cứu cho thấy quá trình trích ly các hợp chất phenolics, saponins và alkaloid từ vỏ quả ca cao chịu ảnh hưởng lớn bởi dung môi và phương pháp trích ly. Trong số 07 dung môi và 03 phương pháp trích ly được nghiên cứu, nước có khả năng thu hồi tốt hợp chất phenolics và alkaloids, trong khi methanol có khả năng thu hồi hợp chất

saponins tốt nhất. Khi sử dụng nước làm dung môi, trích ly hỗ trợ vi sóng giúp thu hồi hợp chất phenolics và saponins cao hơn so với trích ly truyền thống và hỗ trợ siêu âm, nhưng trích ly hỗ trợ siêu âm cho khả năng thu hồi hợp chất alkaloids cao hơn so với 2 phương pháp còn lại. Từ các quả thu được, nghiên cứu này đề xuất sử dụng nước để chiết tách hợp chất phenolics và alkaloids, còn methanol để chiết tách hợp chất saponins; trích ly hỗ trợ vi sóng để chiết tách hợp chất phenolics và saponins, còn trích ly hỗ trợ siêu âm để chiết tách hợp chất alkaloids từ vỏ quả ca cao cho các nghiên cứu và ứng dụng tiếp theo.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ đặt hàng thực hiện từ năm 2019 “Nghiên cứu chiết tách một số hợp chất có hoạt tính sinh học từ phế liệu quả cacao định hướng ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng”, mã số KC-244-2018.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ajanal, M., Gundkalle, M.B., and Nayak, S.U., 2012. Estimation of total alkaloid in Chitrakadivati by UV-Spectrophotometer. *Ancient Science of Life*, 31(4): 198-201.

Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., *et al.*, 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4): 426-436.

AOAC, 1998. Official methods of analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Chew, K., Khoo, M., Ng, S., Thoo, Y., Aida, W.W., and Ho, C., 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, 18(4): 1427-1435.

Donkoh, A., Atuahene, C., Wilson, B., and Adomako, D., 1991. Chemical composition of cocoa pod husk and its effect on growth and food efficiency in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 35(1-2): 161-169.

Madhumitha, G., and Fowsiya, J., 2015. Hand book on: Semi micro technique for extraction of alkaloids. International E-Publication. Indore, pp. 9.

Huang, S.T., Yang, R.C., Yanga, L.J., Lee, P.N., and Pang, J.H.S., 2003. *Phyllanthus urinaria* triggers the apoptosis and Bcl-2 down-regulation in Lewis lung carcinoma cells. *Life Sciences*, 72: 1705-1716.

Newman, D.J., and Cragg, G.M., 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70(3): 461-477.

Newman, D.J., Cragg, G.M., and Snader, K.M., 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981- 2002. *Journal of Natural Products*, 66(7): 1022-1037.

Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, Nguyễn Thị Trúc Ly và *ctv*, 2018. Tối ưu hóa các phương pháp trích ly quercetin từ vỏ hành tím. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 12(97): 57-61.

Nguyen, V.T., Bowyer, M.C., Vuong, Q.V., van Altena, I.A., and Scarlett, C.J., 2015. Phytochemicals and antioxidant capacity of Xao tam phan (*Paramignya trimerica*) root as affected by various solvents and extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 67: 192-200.

Nguyen, V.T., Pham, H.N.T., Bowyer, M.C., van Altena, I.A., and Scarlett, C.J., 2016a. Influence of solvents and novel extraction methods on bioactive compounds and antioxidant capacity of *Phyllanthus amarus*. *Chemical Papers*, 70(5): 556-566.

Nguyen, V.T., and Nguyen, H.N., 2016b. Proximate composition, extraction and purification of theobromine from cacao pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Technologies*, 5(14): 1-10.

Rachmat, D., Mawarani, L.J., and Risanti, D.D. (2018). Utilization of cacao pod husk (*Theobroma cacao* L.) as activated carbon and catalyst in biodiesel production process from waste cooking oil. *In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 4-5 November 2017, Malang, East Java, Indonesia. IOP Publishing Ltd. Bristol, 299: 012093.

Rinaldi, M.V., Diaz, I.E., Suffredini, I.B., and Moreno, P.R., 2017. Alkaloids and biological activity of beribá (*Annona hypoglauca*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(1): 77-83.

Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *In: Packer, L. (Ed.). Oxidants and Antioxidants - Part A: Methods in Enzymology*. Elsevier. Amsterdam, 299, pp. 152-178.

Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J.O., and Dommes, J., 2007. Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*, 105(3): 1268-1275.

Trần Anh Khoa, Nguyễn Thị Ngọc Tuyết và Lê Thị Kim Phụng, 2016. Khảo sát và so sánh các phương pháp trích ly capsaicin từ quả ớt

- (*Capsicum annuum* L.). Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ, 19(K3): 44-51.
- Vuong, Q.V., Hirun, S., Roach, P.D., Bowyer, M.C., Phillips, P.A., and Scarlett, C.J., 2013. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 3(3): 104–111.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., and Li, X., 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106(2): 804-810.
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A., and Wijaya, E.L., 2014. Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4): 850-855.
- Wirasathien, L., Boonarkart, C., Pengsuparp, T., and Suttisri, R., 2006. Biological activities of alkaloids from *Pseuduvaria setosa*. *Pharmaceutical biology*, 44(4): 274-278.