

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT TỪ VỎ LỤA HẠT CACAO VÀ VỎ LỤA HẠT CÀ PHÊ

Lâm Khắc Kỳ^{1,*}, Trần Nguyễn Phúc Trân^{1,*}, Nguyễn Ngọc Quế Châu^{1,*}

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu là xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa thông qua việc chiết xuất các hợp chất sinh học bằng dung môi (ethanol, ethyl axetat, polysaccharide). Khảo sát thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê bằng phương pháp GC-MS và sàng lọc khả năng kháng oxy hóa bằng các phương pháp thực nghiệm *in vitro* như hoạt tính khử sắt III (năng lực khử), hoạt tính bắt gốc tự do (DPPH và ABTS). Phân tích thành phần hóa học bằng phương pháp GC-MS cho thấy, có 9/22 hợp chất trong vỏ lụa cacao và 13/14 hợp chất trong vỏ lụa cà phê có khả năng kháng oxy hóa. Bên cạnh đó, khả năng hoạt động kháng oxy hóa của các hợp chất có trong chiết xuất từ vỏ lụa cacao ở cả 4 thực nghiệm bao gồm: Tổng lượng phenolic (28,87 mg GAE/g), năng lực khử (reducing capacity) (IC50: 546 µg/ml), DPPH (IC50= 459 µg/ml) và ABTS (854 µg/ml) đều cao hơn so với vỏ lụa hạt cà phê với kết quả lần lượt là 23,63 mg GAE/g, 1.521 µg/ml, 603 µg/ml, 970 µg/ml). Như vậy, khả năng kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao tốt hơn vỏ lụa hạt cà phê; cao EtOH và cao polysaccharide cho kết quả kháng oxy hóa tốt nhất. Kết quả nghiên cứu có thể cung cấp dữ liệu cho các nghiên cứu tiếp theo cũng như ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm và nguyên liệu cho ngành dược.

Từ khóa: Kháng oxy hóa, thành phần hóa học, vỏ lụa hạt cà phê, vỏ lụa hạt cacao.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vỏ lụa hạt cacao là một thành phần của quả từ cây cacao có tên khoa học là *Theobroma cacao*. Là lớp vỏ bọc bên ngoài bao phủ hạt cacao, được tạo ra trong quá trình rang hạt cacao và là một trong những sản phẩm phụ thải ra trong quá trình sản xuất, chiếm 10-17% tổng khối lượng hạt [1]. Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, một lượng đáng kể theobromine có độc đối với một số động vật có vú nhưng không phải con người [2], hơn nữa độc tính của nó đối với động vật thủy sản cũng đã được báo cáo [3].

Vỏ lụa hạt cà phê là thành phần của hạt từ cây cà phê có tên khoa học là *Coffea* spp. Trong quá trình sản xuất cà phê, một lượng lớn phụ phẩm được thải ra như vỏ, vỏ lụa, hạt bị lỗi,... Trong đó, vỏ lụa cà phê (là một lớp màng mỏng bao phủ trực

tiếp hạt cà phê) là một phụ phẩm chính và hiện được sử dụng làm phân bón đất. Tuy nhiên, một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, vỏ lụa hạt cà phê là một nguồn chứa các hợp chất sinh học tốt có thể được chiết xuất và sử dụng [4].

Chất chống oxy hóa đóng góp một vai trò quan trọng giúp bảo vệ cơ thể khỏi các tác nhân oxy hóa có hại. Chất chống oxy hóa chịu trách nhiệm phá vỡ dây chuyền của chuỗi phản ứng oxy hóa trong cơ thể bằng việc kết hợp một electron tự do của chúng với các gốc tự do hoặc loại bỏ các ROS/RNS bằng việc ức chế khởi động của chuỗi phản ứng oxy hóa.

Ở Việt Nam, hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu được công bố về vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê. Do đó, nghiên cứu này nhằm xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê qua việc thu nhận các cao chiết bằng cách sử dụng phương pháp chiết cao ngấm kiệt, phương pháp chiết lỏng-lỏng và phương pháp chiết nước với dung môi có

¹ Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh
*Email: lamkhacky@iuh.edu.vn,
19531621.tran@student.iuh.edu.vn,
1433821.chau@student.iuh.edu.vn

tính phân cực tăng dần là ethanol 96%, ethyl axetat và nước để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa qua từng phân đoạn cao. Qua đó, có thể tạo cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về đặc tính sinh học của chúng và phát triển các sản phẩm chức năng hỗ trợ sức khỏe con người, đồng thời giải quyết các vấn đề kinh tế và môi trường.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Vỏ lụa hạt cacao được cung cấp bởi Công ty TNHH Anh Em Cacao. Vỏ lụa hạt cà phê được cung cấp bởi trang trại cà phê Sơn Pacamara. Hóa chất sử dụng trong thử nghiệm bao gồm: Cồn 96%, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic axit) muối diammonium (ABTS), tricloacetic axit 10%, dung dịch đệm photphat, FeCl₃ 0,1%, thuốc thử Phenol của Folin Ciocalteu, axit ascorbic, 2,21 - bipyridyl, clorua ferric, methanol 80%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết cao bằng phương pháp chiết ngâm kiệt

Mẫu được loại bỏ tạp chất, sấy ở 50°C đến khối lượng không đổi, xay nhuyễn. Tiếp đến, tiến hành ngâm chiết với ethanol 96% (EtOH) bằng phương pháp ngâm kiệt với tỉ lệ nguyên liệu với dung môi là 1: 5, mô hình chiết sẽ được ngâm trong vòng 48 giờ, sau đó xả thu nhận dung dịch chiết với tốc độ xả van là 30 giây/giọt. Dung dịch chiết sẽ được cô quay đuổi cồn với nhiệt độ 50°C và thu nhận cao chiết EtOH.

2.2.2. Chiết cao bằng phương pháp chiết lỏng-lỏng

Kỹ thuật chiết được thực hiện ở nhiệt độ phòng, sử dụng bình lắc để chứa dung dịch trong quá trình chiết. Hòa tan cao EtOH vào pha nước và khuấy trộn đều sau đó bổ sung dung môi ethyl axetat (EtOAc), các hợp chất được tách ra khỏi pha nước dựa theo độ phân cực khác nhau. Việc chiết thực hiện đến khi các chất hòa tan hết vào dung môi, cô quay đuổi dung môi và thu nhận cao chiết (EtOAc).

2.2.3. Chiết cao bằng phương pháp chiết nước

Bã nguyên liệu sau khi chiết ngâm kiệt được sấy khô để loại bỏ cồn và chiết nóng đun cách

thủy khoảng 1 giờ, lọc, cô quay giảm thể tích dịch chiết nước còn 1/5 thể tích ban đầu, sau đó tủa cồn 96° với tỉ lệ 1: 4 (v/v). Sau 24 giờ, thu tủa, đuổi cồn, đem đông khô, thu được cao polysaccharide.

2.2.4. Xác định thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Sử dụng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS). Việc xác định các hợp chất có trong cao chiết được phát hiện dựa trên sự trùng khớp về thời gian lưu Rt và số khối MS so với chất chuẩn. Mẫu phân tích được gửi tại Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thử nghiệm thành phố Hồ Chí Minh.

2.2.5. Xác định tổng hàm lượng polyphenol

Phenolic trong các mẫu được xác định bằng phương pháp so màu dựa trên quy trình được mô tả bởi Fu và cs (2011) [4]. Thuốc thử Folin Ciocalteu (FC) (2 ml) được thêm vào 2 ml dịch chiết đã pha loãng. Sau 3 phút, thêm vào 750 µl dung dịch natri cacbonat khan (7,5% khối lượng), hỗn hợp này được định mức lên 10 ml bằng nước cất. Sau 2 giờ, độ hấp thụ được ghi lại tại bước sóng 765 nm. Đường chuẩn được xây dựng với acid gallic làm chất chuẩn ở nồng độ từ 0 – 100 µg/ml. Hàm lượng polyphenol tổng được tính dựa trên phương trình đường chuẩn $y = ax + b$ của chất chuẩn axit gallic:

$$C = c.V/m$$

Trong đó: C là hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/g chiết xuất); c là giá trị x từ đường chuẩn với axit gallic (µg/ml); V là thể tích dịch chiết (ml); m là khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.2.6. Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa in vitro

- Phương pháp đánh giá khả năng kết hợp với ion sắt III (xác định năng lực khử) [5].

Hút 1 ml mẫu thử với nồng độ 0-5.000 µg/ml, bổ sung 2,5 ml dung dịch đệm photphat 0,2 M (pH=6,6), cho tiếp 2,5 ml K₃Fe (CN)₆ 1%, lắc đều, ủ ở nhiệt độ 50°C trong 20 phút. Sau đó, mỗi ống nghiệm được bổ sung thêm 2,5 ml dung dịch tricloacetic axit 10%, lắc đều. Lấy 2,5 ml dung dịch trên cho thêm 2,5 ml nước cất, tiếp tục thêm 0,5 ml dung dịch FeCl₃ 0,1%. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm. Vitamin C nồng độ 0-100 µg/ml được dùng làm chất chuẩn.

- Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng thử nghiệm DPPH [6].

Hút 0,5 ml dịch mẫu với nồng độ 0-1.000 µg/ml, bổ sung 0,75 ml dung dịch DPPH, vortex và ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ 30°C. Mẫu trắng được thực hiện bằng cách cho 1 ml dung dịch mẫu vào 1,5 ml methanol 80%. Đo mật độ quang ở bước sóng 517 nm. Vitamin C nồng độ 0-10 µg/ml được dùng làm chất chuẩn. Khả năng bắt gốc tự do của DPPH được tính theo phần trăm khử gốc tự do theo công thức:

$$I\% = [A_{control} - \frac{A_{sample} - A_{blank}}{A_{control}}] \times 100$$

Trong đó: I% là tỷ lệ bắt gốc DPPH (%); A control là độ hấp thụ của mẫu đối chứng; A sample là độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm sau 30 phút; A blank là độ hấp thụ của mẫu trắng.

- Phương pháp khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng thử nghiệm ABTS [7].

Hút 100 µl dung dịch mẫu có nồng độ từ 0-2.000 µg/ml, bổ sung 3 ml dung dịch ABTS, vortex hỗn hợp phản ứng và ủ trong tối 30 phút. Mẫu trắng được thực hiện bằng cách cho 1 ml dung dịch mẫu vào 1,5 ml đệm PBS, vortex hỗn hợp. Đo mật độ quang ở bước sóng 734 nm. Vitamin C nồng độ từ 0-100 µg/ml được sử dụng làm chất

chuẩn. Khả năng bắt gốc tự do ABTS được tính theo phần trăm bắt gốc:

$$I\% = [A_{control} - \frac{A_{sample} - A_{blank}}{A_{control}}] \times 100$$

Trong đó: I%: tỷ lệ bắt gốc ABTS (%); A control là độ hấp thụ của mẫu đối chứng; A sample là độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm sau 30 phút; A blank là độ hấp thụ của mẫu trắng.

2.2.7. Phương pháp tính giá trị IC50

Với những mẫu có hoạt tính biến thiên tuyến tính với nồng độ, vẽ đường thẳng $y=ax+b$ qua tất cả các điểm giá trị OD đo được (với y là % ức chế, x là nồng độ). Với những mẫu có hoạt tính không biến thiên tuyến tính với nồng độ, chọn 2 nồng độ ức chế trên và dưới 50% và tiến hành vẽ đường chuẩn $y=ax+b$ thu được phương trình $y=ax+b$ với hệ số a,b đã biết. Thay $y=50\%$ vào phương trình sẽ thu được giá trị x. Đó là nồng độ ức chế 50% hoạt tính.

2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Bảng 1. Kết quả thành phần hóa học của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

STT	Mẫu cacao	(%)	Mẫu cà phê	(%)
1	Axeton, isopropylidene-	0,68	-	-
2	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	11,79	-	-
3	Triethylene glycol monomethyl ether axetat	0,06	-	-
4	Benzeneacetic axit	0,90	-	-
5	Desulphosinigrin	0,03	-	-
6	1,4-diazabicyclo[4.3.0]noman-2,5-dione, 3-methyl	0,10	-	-
7	Myristic axit	0,25	-	-
8	Pentadecanoic axit	0,17	-	-
9	Cyclo(L-prolyl-L-valine)	0,15	-	-
10	Caffeine	4,52	Caffeine	13,74

11	Palmitic axit, methyl este	3,56	-	-
12	Hexadecanoic axit	28,07	n- Hexadecanoic acid	3,79
13	Palmitic axit, ethyl este	1,06	-	-
14	9,11-Octadecadienoic axit, methyl este, (E,E)-	0,92	-	-
15	Methyl 11-otadecanoate	4,17	-	-
16	Methyl stearate	2,03	-	-
17	Oleic axit	27,37	-	-
18	Stearic axit	12,10	-	-
19	Eicosanoic axit	0,54	-	-
20	Heptacosane	0,34	Heptacosane	8,01
21	9-Octadecenamide, (Z)-	0,43	-	-
22	Erucylamide	0,75	-	-
23	-	-	n-Heptadecane	1,02
24	-	-	Octadecane	1,68
25	-	-	Nonadecane	3,67
26	-	-	Eicosane	6,00
27	-	-	Heneicosane	9,49
28	-	-	Docosane	11,70
29	-	-	Tetracosane	12,92
30	-	-	Pentacosane	9,87
31	-	-	Hexacosane	8,62
32	-	-	Octacosane	5,54

Thành phần hóa học được xác định trong cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê bằng phương pháp GC-MS. Bảng 1 cho thấy, có 22 hợp chất có trong vỏ lụa cacao, trong đó có 9 hợp chất có khả năng kháng oxy hóa chiếm tỉ lệ tương đối trong thành phần gồm: 4-hydroxy-4-methyl- (11,79%), caffeine (4,52), palmitic axit, methyl este (3,56%), hexadecanoic axit (28,07%), ethyl este (1,06%), methyl 11-otadecanoate (4,17%), methyl

stearate (2,03%), oleic axit (27,37%), stearic axit (12,10%) [8, 9]. Theo kết quả ở bảng 1, có 14 hợp chất được tìm thấy trong vỏ lụa hạt cà phê, trong đó có 13 chất có khả năng kháng oxy hóa gồm: caffeine (13,74%), n-Hexadecanoic axit (3,79%), n-Heptadecane (1,02%), octadecane (1,68%), nonadecane (3,67%), eicosane (6,00%), heneicosane (9,49%), docosane (11,7%), tetracosane (12,92%), pentacosane (9,87%),

hexacosane (8,62%), heptacosane (8,01%), β -Sitosterol axetat (3,96%). Một số nghiên cứu cho thấy, caffeine là một hợp chất có khả năng kháng oxy hóa tốt [10] ngoài ra, còn có thể phòng ngừa điều trị một số bệnh lý [11].

3.2. Kết quả tổng hàm lượng polyphenol của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Polyphenol là các hợp chất chuyển hóa thứ cấp xuất hiện trong nhiều nguồn thực vật. Nhóm hợp chất này cung cấp nhiều đặc tính sinh học như khả năng kháng oxy hóa, trung hòa các gốc tự do

gây hại. Vỏ lụa hạt là một sản phẩm phụ từ ngành công nghiệp cacao, gần đây đã được đề xuất như một thành phần chức năng sinh học và có chi phí thấp, chủ yếu là do hàm lượng polyphenol của nó [12].

Kết quả xác định tổng hàm lượng polyphenol của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê với axit gallic là chất chuẩn có tuyến tính cao ($R^2 = 0,998$). Dựa trên đường chuẩn axit gallic tiến hành định lượng polyphenol tổng số cho kết quả trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả tổng hàm lượng polyphenol của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

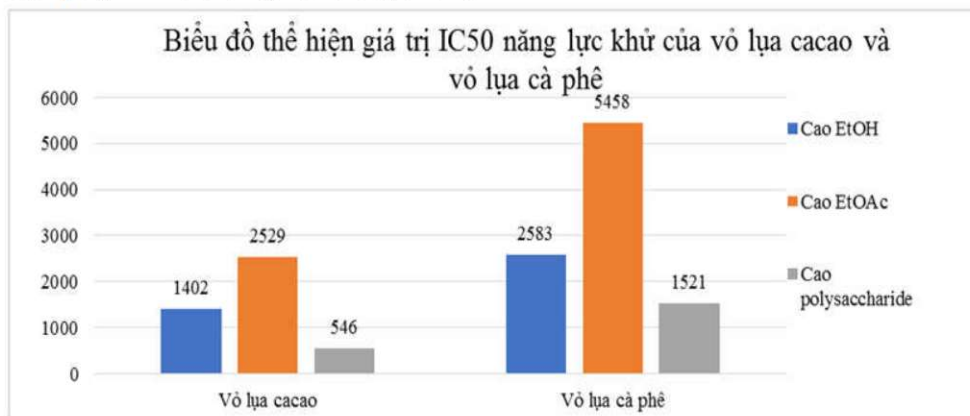
Giá trị	Vỏ lụa hạt cacao	Vỏ lụa hạt cà phê
	$y = 0,0091x + 0,014$, $R^2 = 0,998$	
Nồng độ mẫu thử ($\mu\text{g/ml}$)	1.000	1.000
Độ hấp thụ quang	0,317	0,26
Hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g chiết xuất)	28,87	23,63

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, vỏ lụa hạt cacao có hàm lượng polyphenol tổng số là 28,87 mg GAE/g chiết xuất cao hơn 1,22 lần so với hàm lượng polyphenol tổng số của vỏ lụa hạt cà phê là 23,63 mg GAE/g chiết xuất. Bằng kỹ thuật RP-HPLC-PDA, Rojo-Poveda O và cs (2021) [12] xác định 25 hợp chất polyphenol trong vỏ lụa cacao và xác định rằng các chất chống oxy hóa thu được tương quan cao với hàm lượng polyphenol tổng số. Hơn nữa, các polyphenol phổ biến như là axit phenolic và oligo hoặc polyme flavanol (proanthocyanidin)

thường liên kết một cách tự nhiên với các polysaccharide thành tế bào thực vật nên dẫn đến khả năng kháng oxy hóa ở cao polysaccharide cũng tốt hơn [13]. Kết quả này cho thấy, cần phải lưu ý hơn khả năng bắt gốc tự do ở các thử nghiệm tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa *in vitro* của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng kết hợp với ion sắt III (năng lực khử)



Hình 1. IC50 năng lực khử của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Năng lực khử là một trong những đặc tính quan trọng thể hiện khả năng kháng oxy hóa của mẫu phân tích, xác định được sự hiện diện của các hợp chất có khả năng khử, khả năng nhường nguyên tử hydrogen tạo nên các cấu trúc ổn định hơn, kết thúc phản ứng chuỗi điện tử tự do. Kết quả đánh giá năng lực khử của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được thể hiện ở hình 1.

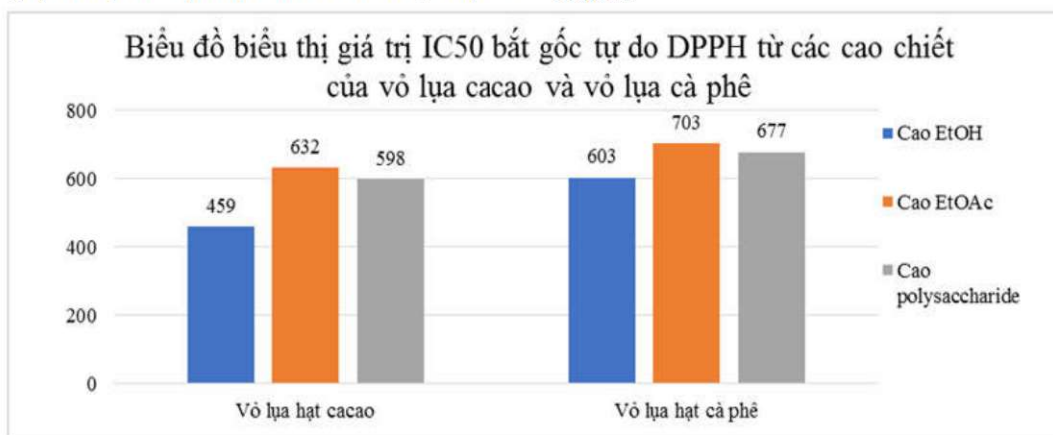
Năng lực khử của các cao chiết có giá trị IC50 càng thấp thì khả năng khử của các hợp chất trong cao chiết càng cao. Khả năng khử tối đa quan sát được trong cao chiết có thể tương quan trực tiếp với sức mạnh kháng oxy hóa tối đa của chúng [14]. Cao polysaccharide thể hiện giá trị IC50 thấp nhất ở cả vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê (lần lượt là 546 µg/ml và 1.521 µg/ml), chứng tỏ các hợp chất có khả năng khử có trong cả hai mẫu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê tập trung nhiều ở cao polysaccharide. Cao EtOH ở cả 2 mẫu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê thể hiện khả năng khử thấp hơn cao polysaccharide (với IC50 lần lượt là 1.402 µg/ml, 2.583 µg/ml). Tuy nhiên, khả năng khử của cao EtOH cao hơn cao EtOAc (với IC50 lần lượt là 2.529 µg/ml và 5.458 µg/ml) của cả 2 mẫu nguyên liệu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà

phê. Kết quả này phù hợp với hàm lượng polyphenol thu được ở vỏ lụa cacao (mục 3.2) nhiều hơn dẫn đến năng lực khử cũng tốt hơn. Kan (2012) cũng đã chứng minh những chiết xuất giàu các hoạt chất sinh học như nucleoside, polysaccharide, protein... có khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ, bảo tồn và bảo vệ chức năng tế bào [15].

Hình 1 thể hiện hoạt tính của vỏ lụa hạt cacao tốt hơn vỏ lụa hạt cà phê, có thể nhận định rằng khả năng kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao tốt hơn vỏ lụa hạt cà phê ở thử nghiệm trên.

3.3.2. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được đánh giá qua khả năng bắt giữ hoặc trung hòa gốc tự do DPPH được thể hiện qua giá trị nồng độ của mẫu mà tại đó có thể ức chế 50% gốc tự do. Giá trị IC50 càng thấp thì mẫu sẽ có khả năng kháng oxy hóa càng cao và ngược lại. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Giá trị IC50 bắt gốc tự do DPPH của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Kết quả khảo sát cho thấy, tất cả cao chiết đều có khả năng bắt gốc tự do DPPH. Vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê cho thấy, cao EtOH cho kết quả bắt gốc tự do cao nhất (IC50 lần lượt là 459 µg/ml và 603 µg/ml), thấp nhất là cao EtOAc (IC50 632 µg/ml và 703 µg/ml). Có thể thấy rằng, ở cả 2 mẫu

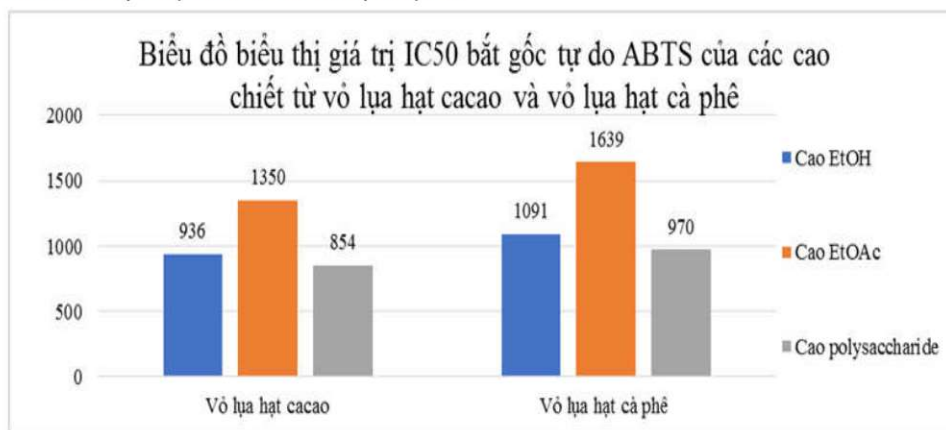
nguyên liệu các hợp chất có khả năng bắt gốc tự do DPPH tập trung nhiều ở cao chiết EtOH. Giá trị IC50 của cả 3 cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao đều thể hiện giá trị thấp hơn vỏ lụa cà phê qua hình 2, chứng tỏ vỏ lụa hạt cacao có khả năng kháng oxy hóa cao hơn vỏ lụa hạt cà phê ở thử nghiệm này.

Botella-Martínez C và cs (2021) [16] khi đánh giá khả năng kháng oxy hóa của vỏ lụa hạt cacao cũng thu nhận được kết quả 2,35-5,53 mg Trolox/g đối với thử nghiệm DPPH.

3.3.3. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do ABTS

Tương tự DPPH, hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà

phê được đánh giá qua khả năng bắt giữ hoặc trung hòa gốc tự do ABTS được thể hiện qua giá trị nồng độ của mẫu mà tại đó có thể ức chế 50% gốc tự do. Giá trị IC₅₀ càng thấp thì mẫu sẽ có khả năng kháng oxy hóa càng cao và ngược lại. Kết quả đánh giá khả năng bắt gốc tự do ABTS của cao chiết từ vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê được thể hiện qua hình 3.



Hình 3. Giá trị IC₅₀ bắt gốc tự do ABTS của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê

Khả năng bắt gốc ABTS của cả vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê đều có giá trị IC₅₀ thấp nhất ở cao polysaccharide (lần lượt là 854 µg/ml và 970 µg/ml) cho thấy, đa số các hợp chất có khả năng bắt gốc tự do ABTS tập trung ở cao này. Ngược lại, cao EtOAc của cả 2 mẫu nguyên liệu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê thể hiện khả năng kháng oxy hóa thấp nhất (IC₅₀ lần lượt là 1.350 µg/ml, 1.639 µg/ml). Kết quả này có thể do các hợp chất polyphenol trong chiết xuất polysaccharide là một trong những hợp chất có khả năng khử tốt, đồng thời cũng thể hiện do cao polysaccharide tan trong nước nên phát huy được hoạt tính tối đa trong dung môi của dung dịch đệm ở thử nghiệm này là nước, phù hợp với chú ý ở mục 3.2.

Nghiên cứu của Botella-Martínez C. và cs (2021) [16] cho thấy, vỏ lụa hạt cacao có khả năng kháng oxy hóa với thử nghiệm ABTS là 3,39-11,55 mg Trolox/g. Aroufai và cs (2002) [5] cũng cho rằng, vỏ lụa hạt cà phê có khả năng kháng oxy hóa trong thử nghiệm bắt gốc tự do của ABTS với kết quả là 71,25-112,94 µmol TE/g.

4. KẾT LUẬN

Trong vỏ lụa hạt cacao xác định được 9/22 và vỏ lụa hạt cà phê 13/14 hợp chất có khả năng kháng oxy hóa.

Hàm lượng polyphenol tổng số có trong cao chiết của vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê lần lượt là 28,87 mg GAE/g và 23,63 mg GAE/g chiết xuất.

Qua 3 thử nghiệm năng lực khử, khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS đều cho thấy, vỏ lụa hạt cacao có khả năng kháng oxy hóa cao hơn vỏ lụa hạt cà phê. Cao EtOH và cao polysaccharide của cả 2 mẫu đều thể hiện hoạt tính tốt.

Có thể sử dụng cao EtOH và cao polysaccharide cho các thử nghiệm hoạt tính khác trên nguồn nguyên liệu vỏ lụa hạt cacao và vỏ lụa hạt cà phê. Ngoài ra, vỏ lụa hạt cacao với hoạt tính kháng oxy hóa tốt có thể tận dụng để kết hợp cùng với hạt cacao và các nguồn nguyên liệu khác ứng dụng vào thực phẩm, bên cạnh đó các hợp chất có hoạt tính sinh học có thể được chiết xuất và ứng dụng vào thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hashimoto, J. C., Lima, J., Celeghini, R. M. D. S., Nogueira, A. B., Efraim, P., Poppi, R. J., & Pallone, J. a. L. (2018). Quality Control of Commercial Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.) by Near-infrared Spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 11(5), 1510–1517.
2. Adamafio, N. A. (2013). Theobromine Toxicity and Remediation of Cocoa By-products: An Overview. *Journal of Biological Sciences*, 13, 570-576.
3. F. E. Olaifa, R. A. Hamzat and O. O. Oyetoyan (2008). Acute Toxicity of Ethanol Extracts of Cocoa Bean Shell on *Sarotherodon galilaeus* Juveniles. *Journal of Fisheries International*, 3: 56-60.
4. Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q. and Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129(2): 345-350.
5. Aroufai, İ. A., Sabuncu, M., Altiner, D. D., & Şahan, Y. (2022). Antioxidant properties and bioaccessibility of coffee beans and their coffee silverskin grown in different countries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(3), 1873–1888.
6. Nguyễn Thị Hằng, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Mai Hữu Phương (2016). Khả năng bắt gốc tự do DDPH và năng lực khử của nam sâm bò ở Cần Giờ, thành phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh*, số 12 (90), 112-122.
7. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lwt - Food Science and Technology*, 28, 25-30.
8. Nicholas J. Miller and Catherine A. Rice-Evan (1997). Factors Influencing the Antioxidant Activity Determined by the ABTS^{•+} Radical Cation Assay.
9. Nguyễn Thị Huỳnh Như, Ngô Đại Hùng, Phạm Ngọc Hoài, Võ Thanh Sang (2020). Khảo sát một số thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết hạt đu đủ. *Tạp chí Khoa học Đại học Thủ Dầu Một*. Số 2(45).
10. Vieira, A. J. S. C., Gaspar, E. M., & Santos, P. A. (2020). Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. *Radiation Physics and Chemistry*, 174, 108968.
11. Montagnana, M., Favaloro, E. J., & Lippi, G. (2012). Coffee Intake and Cardiovascular Disease: Virtue Does Not Take Center Stage. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 38(02), 164–177.
12. Rojo-Poveda O, Zeppa G, Ferrocino I, Stévigny C, Barbosa-Pereira L (2021). Chemometric Classification of Cocoa Bean Shells Based on Their Polyphenolic Profile Determined by RP-HPLC-PDA Analysis and Spectrophotometric Assays. *Antioxidants*. 10 (10): 1533
13. Renard, C. M., & Watrelot, A. A. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science and Technology*, 60, 43–51.
14. Mamta, Mehrotra, S., Amitabh, Kirar, V., Vats, P., Nandi, S. P., Negi, P. S., & Misra, K. (2015). Phytochemical and antimicrobial activities of Himalayan *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. *Indian journal of experimental biology*, 53(1), 36 – 43.
15. Kan, W. C., Wang, H. Y., Chien, C. C., Li, S. L., Chen, Y. C., Chang, L. H., Cheng, C. H., Tsai, W. C., Hwang, J. C., Su, S. B., Huang, L. H., & Chu, J. J. (2012). Effects of Extract from Solid-State Fermented *Cordyceps sinensis* on Type 2 Diabetes Mellitus. Evidence - based complementary and alternative medicine: eCAM, 2012, 743107.
16. Botella-Martínez C, Lucas-Gonzalez R, Ballester-Costa C, Pérez-Álvarez JÁ, Fernández-López J, Delgado-Ospina J, Chaves-López C, Viuda-Martos M (2021). Ghanaian Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean Shells Coproducts: Effect of Particle Size on Chemical Composition, Bioactive Compound Content and Antioxidant Activity. *Agronomy*. 11(2):401.

**INVESTIGATION OF CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM
EXTRACTS OF COCOA BEAN SILK SHELLS AND COFFEE BEAN SILK SHELLS****Lam Khac Ky, Tran Nguyen Phuc Tran, Nguyen Ngoc Que Chau****Summary**

Objective of research is to investigate the chemical composition and antioxidant activity through the extraction of solvent-minced biological compounds (ethanol, ethyl acetate, polysaccharide). Surveying the chemical composition of cocoa bean silk shells and coffee bean silk shells by GC-MS method and screening the antioxidant activity by the *in vitro* assays such as iron reduction activity III (reducing capacity), activity capture free radicals (DPPH and ABTS) from cocoa bean silk shells and coffee bean silk shells. The results of chemical composition analysis by GC-MS method showed that the 9/22 compounds in cocoa silk shells and 13/14 compounds in coffee silk shells have antioxidant activities. In addition, the antioxidant activities of cocoa bean silk shell compounds are higher in total phenolic contents (28.87 mg GAE/g), reducing capacity assay (IC₅₀: 546 µg/ml), DPPH assay (IC₅₀= 459 µg/ml) and ABTS assay (854 µg/ml) than the activity of coffee bean silk shell with the following values (23.63 mg GAE/g, 1521 µg/ml, 603 µg/ml, 970 µg/ml). The *in vitro* antioxidant activity of cocoa bean silk shell is better than coffee bean silk shell while EtOH extract and polysaccharide extract give the best results. The results of the research can serve as a basis for further studies as well as applications in the food industry or pharmaceutical materials.

Keywords: *Oxidation resistance, chemical composition, coffee bean silk shell, cocoa bean silk shell.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Toàn

Ngày nhận bài: 01/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 28/3/2023

Ngày duyệt đăng: 4/4/2023