

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG NỒNG ĐỘ ĐỒNG DUNG MÔI (ETHANOL) ĐẾN QUÁ TRÌNH TRÍCH LY THU NHẬN POLYPHENOL TỪ VỎ QUẢ MĂNG CẦU TA (*ANNONA SQUAMOSA* L.) BẰNG CO₂ SIÊU TỎI HẠN

● TRẦN THỊ HỒNG CHÂU

TÓM TẮT:

Polyphenol là một hợp chất kháng oxy hóa tự nhiên, có tác dụng chống lại các gốc tự do trong hệ thống sinh học đã được tìm thấy nhiều trong rau và trái cây. Bài viết tập trung khảo sát ảnh hưởng nồng độ đồng dung môi (ethanol) đến tổng hàm lượng và hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol trong vỏ quả măng cầu ta bằng phương pháp trích ly sử dụng CO₂ siêu tới hạn. Kết quả thu được như sau: hàm lượng polyphenol cao nhất là 79,43 (mg GAE/g chất khô), hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol theo DPPH là 983,37 (μmol TE/g chất khô) và theo ABTS là 698,69 (μmol TE/g chất khô) được thực hiện trong điều kiện nồng độ đồng dung môi 10%, thời gian trích ly 60 phút, nhiệt độ trích ly 40°C, áp suất trích ly 150bar.

Từ khóa: Polyphenol, vỏ quả măng cầu ta, CO₂ siêu tới hạn, đồng dung môi.

1. Đặt vấn đề

Phụ phẩm trái cây là một trong những nguồn chính tạo nên chất thải hữu cơ gây ô nhiễm môi trường [1, 2]. Theo các nghiên cứu gần đây, hàm lượng các chất chống oxy hóa đã được tìm thấy rất cao trong vỏ và hạt của một số trái cây [3, 4].

Măng cầu ta (*Annona squamosa* L.) là một cây trồng quan trọng và phân bố rộng rãi ở các nước nhiệt đới cũng như Việt Nam. Từ lâu nó đã được sử dụng như một loại thuốc dân gian để điều trị chứng đông kinh, nhồi máu cơ tim, nhiễm giun, táo bón, xuất huyết, nhiễm trùng, sốt và loét [5].

Thịt quả măng cầu ta được sử dụng để chế biến các loại nước trái cây, kem và các sản phẩm khác. Việc chế biến các sản phẩm từ quả măng cầu sẽ để lại một số lượng đáng kể các bộ phận không ăn được. Trong các nghiên cứu trước đây, hàm lượng polyphenol bao gồm alkaloid, tannin, flavonoid, saponin cực cao và khả năng chống oxy hóa đã được tìm thấy trong vỏ măng cầu [5 - 7]. Do đó, tận dụng phụ phẩm từ quả măng cầu để trích ly các hợp chất chống oxy hóa, cụ thể là polyphenol dùng làm dược liệu hay chế biến thực phẩm chức năng sẽ mang lại ý nghĩa về lợi ích

kinh tế và y học góp phần giảm thiểu rác thải ra môi trường.

Chất lỏng siêu tới hạn (SFE) là một công nghệ trích ly thu được các chất chiết xuất chứa ít tạp chất hơn trích ly bằng chất lỏng hữu cơ thông thường giúp các bước làm sạch sau trở nên dễ dàng hơn [8]. Chất lỏng siêu tới hạn được sử dụng nhiều nhất là CO₂ vì nó có nhiệt độ và áp suất tới hạn tương đối thấp là 31,2°C và 73.8 bar cho phép trích ly các hợp chất không bền nhiệt tốt hơn. Đặc biệt, CO₂ là chất khí trơ không độc hại, không cháy, rẻ tiền, có dạng khí ở nhiệt độ và áp suất phòng giúp cho việc thu hồi chiết xuất và cung cấp chất chiết xuất không dung môi rất đơn giản [9, 10].

Ngoài ra, trích ly là quá trình hòa tan chọn lọc một hay nhiều cấu tử có trong mẫu nguyên liệu, một hợp chất sẽ hòa tan vào một dung môi khi cấu trúc hóa học của nó tương tự với dung môi đó. Động lực của quá trình trích ly là sự chênh lệch nồng độ của cấu tử ở trong nguyên liệu và dung môi, nếu dùng ít dung môi có thể không trích ly hết hợp chất cần trích, nếu dùng nhiều dung môi có thể làm tăng tạp chất trong dịch trích. Do vậy, xác định tỷ lệ nguyên liệu và dung môi phù hợp là rất quan trọng và cần thiết [11].

Kết quả khảo sát này sẽ làm cơ sở để xác định nồng độ của ethanol trong trích ly polyphenol bằng CO₂ siêu tới hạn cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu, hóa chất, thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu chính: Vỏ quả măng cầu ta.

2.1.2. Hóa chất (Bảng 1)

Bảng 1: Các hóa chất chính sử dụng trong nghiên cứu

Tên hóa chất	Xuất xứ	Độ tinh khiết
K ₂ S ₂ O ₈	Trung Quốc	96 %
Na ₂ CO ₃	Trung Quốc	96 %
Ethanol	Trung Quốc	98 %
DPPH	Đức	99,5 %
ABTS	Đức	99,5 %
Acid gallic	Nhật	98 %
Folin - Ciocalteu	Đức	98%

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình lấy mẫu

Quả măng cầu được mua và chuyển về từ Tây Ninh, chọn quả vừa chín tới, có màu trắng xuất hiện ở các kẽ ranh giới giữa 2 mắt và các kẽ dầy, trọng lượng trung bình khoảng 200 - 250g, đường kính quả trung bình khoảng 7.5cm, không sâu hay bị bầm, dập, được rửa sạch kỹ bằng nước và làm khô ở nhiệt độ phòng, tách vỏ bằng tay và rửa lại bằng nước để làm sạch phần bột thịt còn bám trên vỏ, sấy khô bằng không khí nóng ở nhiệt độ 60°C cho đến khi hàm lượng ẩm còn 10 - 12%. Nguyên liệu được nghiền nhỏ và sàng qua rây có kích thước 0,5mm và được chia đều vào các túi PE với khối lượng khoảng 5 ± 0,03g dùng cho mỗi lần thí nghiệm. Các túi PE chứa mẫu được hàn ghép mí và bảo quản trong tủ đông, t^o < -200C [12, 13]. (Hình 1)

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Bột vỏ măng cầu nguyên liệu được cân 5 ± 0,03 g và cho vào ống trích sau đó lắp vào thiết bị siêu tới hạn. Lưu lượng dòng CO₂ được điều chỉnh 4 lít/phút, nồng độ đồng dung môi thay đổi theo từng đơn vị thí nghiệm. Dịch trích được thu sau 60 phút. Sau khi kết thúc quá trình trích ly, dung dịch thí nghiệm được định mức ở 100 ml bằng nước cất để xác định hàm lượng và hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol. Yếu tố cố định gồm: nhiệt độ 40°C, áp suất 150 bar, thời gian 60 phút. Yếu tố thay đổi là nồng độ đồng dung môi theo tỉ lệ: 5%, 10%, 15%, 20%.

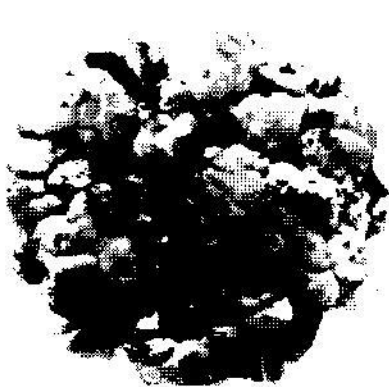
Từ kết quả, chọn tỷ lệ dung môi phù hợp cho quá trình trích ly (nhằm thu được hợp chất có hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa riêng của polyphenol cao).

2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi và phương pháp phân tích

2.2.3.1. Hàm lượng polyphenol

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định bằng phương pháp UV-VIS với thuốc thử Folin-Ciocalteu dựa theo TCVN 9745 -1-2013. Phương pháp này dựa trên khả năng phản ứng với các hợp chất polyphenol của thuốc thử Folin-Ciocalteu. Đây là hỗn hợp muối phức molybdostungtate rất nhạy đối với chất khử, nên khi có mặt hợp chất polyphenol trong môi trường kiềm nhẹ sẽ bị khử thành hợp chất có màu xanh có độ hấp thụ mạnh

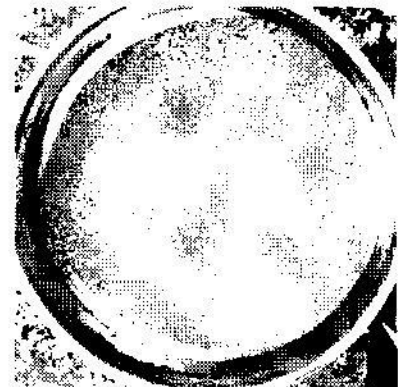
Hình 1: Vỏ quả măng cầu nguyên liệu



Vỏ quả măng cầu tươi

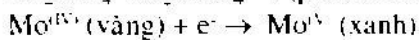
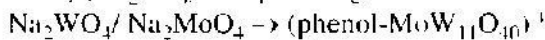


Vỏ quả măng cầu khô



Bột vỏ quả măng cầu

nhất ở bước sóng 734 nm. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ các hợp chất polyphenol có trong dịch trích và được đo bằng máy quang phổ so màu. Dùng acid gallic là đồ thị chuẩn để tính hàm lượng polyphenol tổng có trong mẫu phân tích với đơn vị tính là mgGAE/g chất khô vỏ quả măng cầu ta được sử dụng để thu nhận dịch trích. Thuốc thử Folin-Ciocalteu được hình thành từ hỗn hợp của sodium tungstene (Na_2WO_4) và sodium molybdare (Na_2MoO_4). Thuốc thử này tạo một phức hợp oxit màu xanh với polyphenol trong môi trường kiềm nhẹ (Na_2CO_3) theo phản ứng như sau:



(Xem Bảng 2)

Với y: độ hấp thụ của mẫu, x là nồng độ acid galic (ppm)

Ta có phương trình đường chuẩn polyphenol có dạng $y = 0,1018x + 0,0254$; $R^2 = 0,9984$

Từ đồ thị đường chuẩn, xác định được hàm lượng polyphenol tổng có trong mẫu nghiên cứu. Kết quả:

$$\frac{\text{mgGAE}}{1 \text{ g mẫu}_{\text{chất khô}}} = C_x \times \frac{V_{\text{đm}}}{1000} \times \frac{V_{\text{mẫu}}}{V_{\text{đm}}} \times \frac{1}{a_y} \times \frac{100}{100 - w_{\text{mẫu}}}$$

Trong đó: $V_{\text{đm}} = 10 \text{ ml}$; $V_{\text{đm}} = 100 \text{ ml}$;

$V_{\text{xđ}} = 0,1 \text{ ml}$; a: lượng mẫu kiểm tra (g);

w: độ ẩm (%).

2.2.3.2. Hoạt tính kháng oxy hóa

a. Phương pháp 2,2 - diphenyl - 1 - picryl hydrazyl radical (DPPH)

Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) [16].

Bảng 2. Xây dựng đường chuẩn acid gallic (14,15)

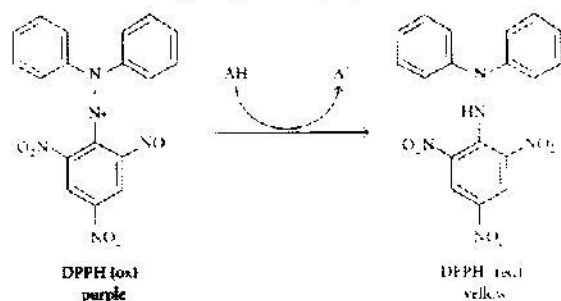
Số ống	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	M1	M2	M3
Acid gallic (100ppm)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	0	0	0
Dịch mẫu (ml)												0,1	0,1	0,1
FC 10% (ml)							1,8							
Lắc đều, để yên 5 phút														
Na_2CO_3 15% (ml)	1,2													
Nước cất (ml)	7,0	6,9	6,8	6,7	6,6	6,5	6,4	6,3	6,2	6,1	6,0	6,9	6,9	6,9
Nồng độ (Cx)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			

Lắc đều rồi ủ ở điều kiện tối trong 1 giờ 30 rồi đem đo quang ở bước sóng $\lambda = 734 \text{ nm}$.

DPPH là gốc tự do bền ở nhiệt độ phòng, nó có thể nhận điện tử hoặc gốc hydro để trở thành phân tử bền và nghịch tử. Vì DPPH có một điện tử lẻ nên có màu tím đậm trong etanol hoặc methanol và hấp thụ mạnh ở bước sóng cực đại là 517nm. Khi điện tử đó được ghép cặp thì độ hấp thụ giảm và kéo theo sự giảm màu tỷ lệ với số điện tử ghép cặp.

Phản ứng trung hòa gốc DPPH của các chất kháng oxy hóa được minh họa trong phản ứng sau: (Hình 2)

Hình 2: Phản ứng trung hòa gốc DPPH của các chất kháng oxy hóa (16)



Hút 0,1ml dịch chiết mẫu vào ống nghiệm. Mẫu đối chứng thay dịch chiết bằng nước cất. Tiếp theo, hút thêm 4ml dung dịch DPPH vào ống nghiệm, sau đó thêm cồn vào ống nghiệm cho đủ 5ml và ủ tối trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang học ở 517 nm.

Chất chuẩn Trolox - một dẫn xuất của vitamin E được dùng làm chất chuẩn. Khả năng kháng oxy hóa được xác định dựa trên đồ thị chuẩn giữa nồng độ Trolox và phần trăm độ giảm hấp thụ, được biểu diễn bằng (μmol Trolox equivalent/100g) (μmol TE/100g). Tiến hành với chất chuẩn Trolox và mẫu theo Bảng 3.

Phần trăm độ giảm hấp thụ được xác định theo công thức

$$AA(\%) = \frac{(A \text{ đối chứng} - A \text{ mẫu}) * 100}{A \text{ đối chứng}}$$

Trong đó: A đối chứng: Độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng, A mẫu: Độ hấp thụ quang của mẫu cần xác định.

Phương trình đường chuẩn DPPH có dạng $y = 3,9076x + 0,6286$ với $R = 0,9972$. Khả năng kháng oxy hóa của mẫu thì được biểu diễn dưới đơn vị μM Trolox/1g mẫu.

$$\frac{\mu\text{M Trolox}}{1 \text{ g chất khô}} = Cx \cdot V_{10-3} \cdot \frac{V_{\text{mẫu}}}{V_{\text{xé}}} \cdot \frac{V_{\text{mẫu}}}{V_{\text{hút}}} \cdot \frac{100}{m(100-w)}$$

b. Phương pháp 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

Xác định hoạt tính kháng oxy hóa là phương pháp dựa trên khả năng làm giảm độ hấp thụ của gốc tự do cation ABTS* bởi các hoạt chất có hoạt tính kháng oxy hóa ở bước sóng 734 nm. Cường độ màu của ABTS* tỷ lệ nghịch với nồng độ các chất kháng oxy hóa và thời gian phản ứng. Dựa vào đường chuẩn trolox với thuốc thử sẽ tính được hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu phân tích. ABTS được pha trong nước cất đến nồng độ 7 mM (dung dịch A), K₂S₂O₈ pha trong nước cất đến 2,45 mM (dung dịch B). Gốc tự do cation ABTS* được tạo ra bằng phản ứng giữa dung dịch A và B theo tỉ lệ 1:1 về thể tích, phản ứng diễn ra trong bóng tối từ 12 - 16 giờ ở nhiệt độ phòng (dung dịch stock).

Pha loãng dung dịch stock bằng nước cất để đạt độ hấp thụ 0,7 ± 0,02 A ở 734 nm (dung dịch C). Dung dịch C được chuẩn bị mới cho từng phép thử. (Bảng 4)

Bảng 3. Xây dựng đường chuẩn DPPH (15)

Số ống	0	1	2	3	4	5	6	7	8	M1	M2	M3
DD Trolox 50 μM (ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0	0	0
DD mẫu(ml)					0					0,1	0,1	0,1
DPPH 0,1mM (ml)						4						
Cồn etylic (ml)	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,9	0,9	0,9
Nồng độ (IM)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	Cx		

Lắc đều và ủ ở điều kiện bóng tối, nhiệt độ phòng trong 30 phút rồi đem đo quang ở bước sóng λ=517nm

Bảng 4. Xây dựng đường chuẩn của ABTS (17)

Ống nghiệm	0	1	2	3	4	5	6	M1	M2	M3
DD Trolox 50 µM (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2			
DD mẫu (ml)								0,1	0,1	0,1
DD stock (ml)	3									
Cồn etylic (ml)	2	1,8	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	1,9	1,9	1,9
Nồng độ (µM)	0	2	4	6	8	10	12	Cx		

Lắc đều và ủ nhiệt độ phòng trong 15 phút, trong bóng tối
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 734 nm

Phần trăm độ giảm độ hấp thụ của mẫu thử (%) tính bằng công thức:

$$\% \Delta OD = 1 - \frac{A_{mẫu}}{A_{đối chứng}}$$

Trong đó:

$A_{mẫu}$: độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm (có dung dịch C).

$A_{đối chứng}$: độ hấp thụ của ABTS* không có pha mẫu (thay 0,04 ml mẫu bằng nước cất).

Phương trình đường chuẩn ABTS có dạng $y = 8,0865x + 0,9273$ với $R = 0,999$. Khả năng kháng oxy hóa của mẫu thì được biểu diễn dưới đơn vị µmol Trolox/1g mẫu.

$$\frac{\mu M \text{ Trolox}}{1 \text{ g chất khô}} = Cx \cdot V_{đm} \cdot \frac{V_{đm2}}{V_{đd}} \cdot \frac{V_{đm2}}{V_{hử}} \cdot \frac{100}{m(100-w)}$$

Trong đó: m: lượng mẫu kiểm tra (g); w: độ ẩm tương đối (%).

Từ kết quả, chọn tỷ lệ dung môi phù hợp cho quá trình trích ly (nhằm thu được hợp chất có hàm lượng và hoạt tính chống oxy hóa riêng của polyphenol cao).

2.2.4. Xử lý số liệu

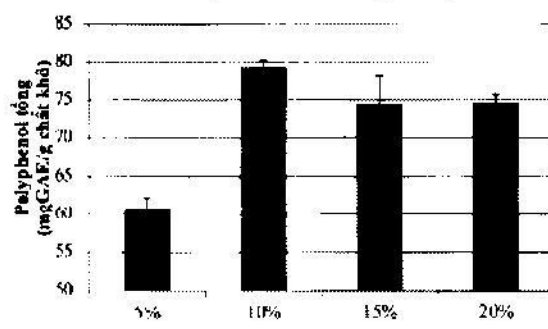
Xử lý số liệu và vẽ đồ thị bằng phần mềm

microsoft excel 2010, phần mềm JMP 10 với sự khác biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Từ kết quả trên cho thấy nồng độ của ethanol sử dụng có ảnh hưởng lớn đến hiệu quả trích ly polyphenol. Hình 3 cho thấy nồng độ của ethanol thay đổi từ 5% đến 10% thì hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa tăng (Hình 4). Hàm lượng polyphenol tăng từ 60,8 (mgGAE/g chất

Hình 3: Ảnh hưởng nồng độ của dung môi đến hàm lượng polyphenol (mg GAE/g chất khô)

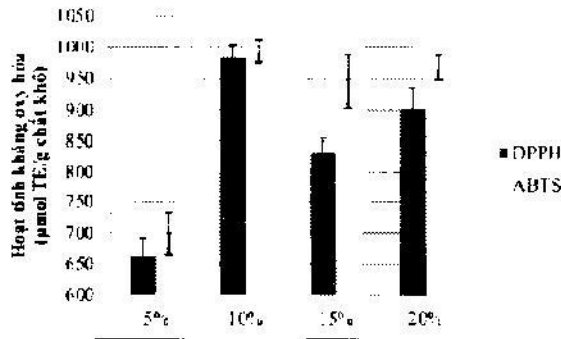


Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến quá trình trích ly thu nhận hàm lượng và hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol

Nồng độ	Phenolic (mgGAE/g CK)	DPPH (µmol TE/g CK)	ABTS (µmol TE/g CK)
5%	60.801±1.3447 ^a	662.273±28.9301 ^a	698.694±33.8103 ^a
10%	79.427±0.8137 ^b	983.367±21.0452 ^b	993.979±18.0083 ^b
15%	74.58±3.542 ^b	834.135±20.9815 ^b	945.283±43.2539 ^b
20%	74.642±1.0661 ^b	900.631±33.0972 ^b	967.292±19.3821 ^b

* Trong cùng một cột, các giá trị được đánh dấu bởi các chữ cái giống nhau thì sự khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha = 0,05$).

Hình 4: Ảnh hưởng nồng độ của đồng dung môi đến hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô)



khô) đến 79,43 (mgGAE/g chất khô), hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH tăng từ 662,27 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô) lên 983,37 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô) và hoạt tính kháng oxy hóa theo ABTS tăng từ 698,69 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô) lên 967,29 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô). Tiếp tục tăng nồng độ của ethanol từ 10% đến 15% thì hàm lượng polyphenol giảm còn 74,58 (mgGAE/g chất khô) và tăng nhẹ ở nồng độ của ethanol 20% là 74,64 (mgGAE/g chất khô), hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH giảm còn 834,14 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô) và lại tăng lên 900,63 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô), hoạt tính kháng oxy hóa theo ABTS giảm 945,28 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô) và tăng nhẹ lên 967,29 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô).

Hàm lượng và hoạt tính kháng oxy của polyphenol đạt cao nhất ở nồng độ của đồng dung môi (ethanol) là 10%, nguyên nhân là do ethanol

làm tăng độ hòa tan của các polyphenol trong mẫu do sự gia tăng độ phân cực của dung môi [18]. Tuy nhiên, nếu nồng độ đồng dung môi tăng nhiều hơn sẽ làm giảm hiệu quả trích ly. Nguyên nhân khi tăng nồng độ của dung môi sẽ làm tăng lưu lượng dòng chảy của dung môi qua mẫu nhanh hơn, làm cho tốc độ trích ly các chất tan từ nguyên liệu sẽ gia tăng nhưng nếu lưu lượng dòng dung môi tăng quá nhiều thì chất tan và dung môi chưa kịp liên kết với nhau. Do đó, hiệu quả trích ly sẽ bị giảm xuống [18]. Hơn nữa, khi tỷ lệ của dung môi cao hơn sẽ làm thay đổi độ phân cực trong dung môi trích ly nên hàm lượng thu được sẽ bị giảm [18].

4. Kết luận

Từ kết quả thu được cho thấy ở nồng độ đồng dung môi 10%, thời gian trích ly 60 phút, nhiệt độ trích ly 40°C, áp suất trích ly 150bar đã thu được hàm lượng polyphenol cao nhất là 79,43 (mg GAE/g chất khô), hoạt tính kháng oxy hóa của polyphenol theo DPPH là 983,37 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô) và theo ABTS là 698,69 ($\mu\text{mol TE/g}$ chất khô).

Kết quả khảo sát này cũng tương đồng với nghiên cứu chiết xuất polyphenol từ hạt ổi thu được hiệu quả cao nhất với nồng độ ethanol 10% [19]. Vì vậy, sử dụng nồng độ của ethanol là 10% để chiết xuất polyphenol từ vỏ quả măng cầu ta là phù hợp. Kết quả nghiên cứu này cũng là cơ sở để chọn làm thông số cố định cho các nghiên cứu tiếp theo từ bột vỏ măng cầu ta và các sản phẩm tương tự ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Chumnanpaisont N., Niamnuy C. and Devahasin S. (2014). Mathematical model for continuous and intermittent microwave-assisted extraction of bioactive compound from plant material: Extraction of α -carotene from carrot peels. *Chemical Engineering Science*, 116, 442 - 451.
2. Fernández A., Freire M.S., Antorrena G., Pereira J.A. and González J. (2014). Effect of the extraction technique and operational conditions on the recovery of bioactive compounds from chestnut (*Castanea sativa*) bur and shell. *Separation Science and Technology*, 49(2), 267- 277.
3. Aila C.M., Naidu K.A., Bhat S.G. and Prasada Rao U.J.S. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 105, 982 - 988
4. Okonogi A., Duangrat C., Anuchpreeda S., Tachakittirungrod S. and Chowwana S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chem.*, 103, 839 - 846.

5. Kumar R., Roopan S.M., Prabhakarn A., Khanna V.G. and Chakraborty S. (2012). Agricultural waste *Annona squamosa* peel extract. Biosynthesis of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90, 173 - 176.
6. Deng G.F., Shen C., Xu X.R., Kuang R.D., Guo Y.J., Zeng L.S., Gao L.L., Lin X., Xie J.F. and Xia L.Q. (2012). Potential of fruit wastes as natural resources of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 8308 - 8323.
7. Pinto, A.C.Q., Cordeiro, M.C.R., Andrade, S.R.M., Ferreira, I.R., Filgueiras, H.A.C., Alves, R.E. and Kinpara, D.I. (2005). *Annona species*, *International Centre for Underutilised Crops*. Southampton, UK, University of Southampton.
8. Noh M. J., Kim T. G., Hong I. K. and Yoo K. P. (1995). Measurements and correlation of effect of cosolvents on the solubilities of complex molecules in supercritical carbon dioxide. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 12, 48 - 55.
9. Choi Y.H., Kim J., Noh M.J., Park E.M. and Yoo K.P. (1996). Extraction of epicuticular wax and nonacosan 10-ol from Ephedra herb utilizing supercritical carbon dioxide. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 13, 216 - 219.
10. Muthukumar P., Gupta R. B., Sung H. D., Shim J. J. and Bae H. K. (1999). Dye solubility in supercritical carbon dioxide. Effect of hydrogen bonding with cosolvents. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 16, 111 - 117.
11. Lê Văn Việt Mẫn (Chủ biên), Lại Quốc Đạt, Nguyễn Thị Hiền, Tôn Nữ Minh Nguyệt và Trần Thị Thu Trà (2011). Công nghệ chế biến thực phẩm. NXB đại học quốc gia TP. Hồ Chí Minh 310-320.
12. Porto C.D., Porretto E. and Decorti D. (2013). Comparison of ultrasound assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076 - 1080.
13. Tabaraki R., Heidarizadi E. and Benvidi A. (2012). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 98, 16 - 23.
14. Leonardo F. M. (2011). Antioxidant activity, total phenolic compounds and flavonoids of mangoes coming from biodynamic, organic and conventional cultivations in three maturation stages. *British Food Journal*, 113(9), 1103 - 1113.
15. Kadarani K.D., Setyadjit, Seno S. H. D. and Sukasih E. (2015). Total Phenol and Antioxidant from Seed and Peel of Ripe and Unripe of Indonesian Sugar Apple (*Annona squamosa* L.) Extracted with Various Solvents. *IOSR Journal of Pharmacy*, 5(10), 20-25.
16. Tarbart J., Kever C., Pincemail J., Defraigne J. and Dommes J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113, 1226-1233.
17. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Evans R. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231 - 1237.
18. Rostagno M.A. and Prado J.M. (2013). Natural Product Extraction Principles and Applications. *The Royal Society of Chemistry*, 230 - 275.
19. Castro H.L., Rodríguez L.L., Ferreira S.R.S. and Parada F.J. (2011). Integrated utilization of guava (*Psidium guajava* L.): antioxidant activity of phenolic extracts obtained from guava seeds with supercritical CO₂-ethanol. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(12), 2383-2390. DOI: 10.1590/S0103-50532011001200020.

Ngày nhận bài: 21/8/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 1/9/2020

Ngày chấp nhận đăng bài: 11/9/2020

Thông tin tác giả:

TRẦN THỊ HỒNG CHÂU

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh

**A RESEARCH ON THE EFFECT OF THE CONCENTRATION
OF ETHANOL CO-SOLVENT ON THE TOTAL CONTENT AND
THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POLYPHENOL IN CUSTARD
APPLE (*ANNONA SQUAMOSAL L.*) PEELS BY USING
THE SUPERCRITICAL CO₂ EXTRACTION METHOD**

● **TRAN THI HONG CHAU**

Ho Chi Minh City University of Food Industry

ABSTRACT:

Polyphenol is a natural antioxidant compound protecting against free radicals in biological systems and polyphenol is found in many fruits and vegetables. This research is to examine the effect of the concentration of ethanol co-solvent on the total content and the antioxidant activity of polyphenol in custard apple (*Annona squamosal L.*) peels by using the supercritical CO₂ extraction method. This research's findings show that the highest polyphenol content (79.43 mg GAE/g dry matter), and the polyphenol antioxidant capacity according to DPPH (983.37 μmol TE/g dry matter) and according to ABTS (698.69 μmol TE/g dry matter) are achieved when the extraction conditions are 10% solvent concentration, 60minute extraction time, 40°C extraction temperature, and 150bar extraction pressure.

Keywords: Polyphenol, custard apple peels, supercritical CO₂, co-solvent.