



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.010

## TINH SẠCH, XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN VÀ KHÁNG MỐC CỦA POLYPHENOL TỪ BÃ CÀ PHÊ

Hoàng Thị Ngọc Nhon\*, Trần Phước Huy và Bùi Anh Thư

Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Hoàng Thị Ngọc Nhon (email: nhonhtn@cntp.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 14/02/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

### Title:

Purification, bioactivity of polyphenol from spent coffee grounds

### Từ khóa:

Bã cà phê, DPPH, MIC, polyphenol, silicagel

### Keywords:

DPPH, MIC, polyphenol, silicagel, spent coffee grounds

### ABSTRACT

In this study, polyphenol from spent coffee grounds were extracted by solvent with the pretreatment by microwave and ultrasound then evaporated (vacuum). The concentrated extract was purified by silica-gel chromatography method. Additionally, the activity of antioxidants DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) effects of the extract and polyphenol powder were determined, as well as, antibacterial and antifungal effects. The result shows that the fractions which were obtained from silicagel column chromatography having a remarkable proportion of purification from 48.43% to 76.81%, the highest polyphenol content was 95.51 ( $\mu\text{g/mL}$ ) at fraction 6. Moreover, polyphenol extract also had an antibacterial and antifungal activity with the minimum inhibitory concentrations (MICs) were 45 $\mu\text{g/mL}$ , 75 $\mu\text{g/mL}$  for *Escherichia coli* and *Aspergillus niger*, respectively. DPPH free radical scavenging activity of polyphenol extract with  $SC_{50}$  reached 53.78 $\pm$ 4.65 ( $\mu\text{g/mL}$ ).

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, polyphenol được chiết tách từ bã cà phê bằng phương pháp sử dụng dung môi có hỗ trợ tiền xử lý bằng vi sóng và siêu âm sau đó thực hiện cô quay chân không thu cao chiết polyphenol. Tiến hành nghiên cứu quá trình tinh sạch polyphenol từ cao chiết bã cà phê bằng phương pháp sắc ký cột silicagel để thu các phân đoạn có hàm lượng và độ tinh sạch của polyphenol cao nhất, tiếp theo thử hoạt tính chống oxy hóa (dịch trích và bột polyphenol bã cà phê) bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate), hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm mốc. Vi khuẩn và nấm mốc được sử dụng trong nghiên cứu là *Escherichia coli* (*E. coli*) và *Aspergillus niger* (*A. niger*). Kết quả thu được cho thấy các phân đoạn được chọn sau khi qua sắc ký cột silicagel có độ tinh sạch cao từ 48,43% - 76,81%, hàm lượng polyphenol cao nhất là 95,51 ( $\mu\text{g/mL}$ ) ở phân đoạn số 6. Ngoài ra, dịch trích polyphenol còn có hoạt tính kháng khuẩn (*E. coli*) và kháng nấm mốc (*A. niger*) với nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum Inhibitory Concentration - MIC) lần lượt là 45 ( $\mu\text{g/mL}$ ) và 75 ( $\mu\text{g/mL}$ ). Hoạt tính chống oxy hóa của dung dịch trích từ bã cà phê có giá trị  $SC_{50}$  đạt 53,78  $\pm$  4,65 ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Trích dẫn: Hoàng Thị Ngọc Nhon, Trần Phước Huy và Bùi Anh Thư, 2019. Tinh sạch, xác định hoạt tính kháng khuẩn và kháng mốc của polyphenol từ bã cà phê. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 79-84.

## 1 GIỚI THIỆU

Cà phê là một loại thức uống phổ biến bậc nhất ở nhiều quốc gia, thức uống này có tác dụng kích thích hệ thần kinh, giúp giảm stress và ngăn chặn quá trình lão hóa. Sản lượng cà phê của thế giới năm 2017-2018 ước tính khoảng 9,5 tỉ tấn (Lewin *et al.*, 2007). Trên thế giới, mỗi ngày có khoảng 6,6 triệu tấn cà phê được tiêu thụ và thải ra ngoài như là chất thải (Pelupessy, 2003). Số lượng cửa hàng cà phê tại Việt Nam rất nhiều, đây chính là nguồn thải ra một lượng rất lớn bã cà phê mỗi ngày. Bã cà phê là nguồn chứa hợp chất polyphenol với nhiều hoạt tính có lợi cho sức khỏe như: chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng virus, kháng viêm và khả năng phòng chống ung thư. Hàm lượng acid chlorogenic chiếm phần lớn trong bã cà phê (Panusa *et al.*, 2013). Vì vậy việc đầu tư nghiên cứu để tạo ra sản phẩm mới có hoạt tính sinh học ứng dụng vào các ngành thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm đang được quan tâm, giúp mở ra hướng đi mới cho các ngành công nghiệp. Sau quá trình trích ly polyphenol, trong dịch trích còn có một số thành phần phi polyphenol như: đường, các acid hữu cơ và các acid béo tự do (Gómez *et al.*, 2005), các thành phần này làm ảnh hưởng đến độ tinh sạch và chất lượng của dịch trích polyphenol. Trong nghiên cứu này, phương pháp sắc ký cột silicagel được sử dụng kết hợp với phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC) nhằm mục đích tinh sạch các hợp chất polyphenol trong bã cà phê.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu

Bã cà phê Robusta (*Coffea canephora*) được thu nhận tại cửa hàng The Coffee House (599 Trường Chinh, Phường 14, Quận Tân Bình, Thành phố Hồ Chí Minh). Tại phòng thí nghiệm, bã cà phê được loại bỏ tạp chất, sấy ở nhiệt độ 60°C cho đến khi độ ẩm  $\leq 10\%$ , tiến hành rây và bảo quản trong túi zipper (10×14 cm) ở nhiệt độ phòng cho đến khi sử dụng.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Chuẩn bị mẫu thí nghiệm

– Dịch trích: Tiến hành trích ly polyphenol từ 100 g bã cà phê (tính theo chất khô) bằng dung môi ethanol 70% theo tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 30/1 (v/w). Sau đó xử lý tiền trích ly với sự hỗ trợ vi sóng (7 phút, công suất 300 W) và siêu âm (7 phút, công suất 300 W). Dung dịch thí nghiệm thu được đem ly tâm với tốc độ 5500 vòng/phút trong 15 phút để bỏ bã thu được dịch trích polyphenol.

– Bột polyphenol: Bổ sung maltodextrin để hàm lượng chất khô của dịch trích đạt 12%, tiến hành sấy phun ở nhiệt độ 150°C, tốc độ dòng 400 mL/phút.

– Cao chiết polyphenol: Thực hiện cô quay chân không dịch trích ly polyphenol ở 45°C bằng máy cô quay IKA trong thời gian 60 phút.

– Dịch polyphenol sau tinh sạch: Tinh sạch từ cao chiết polyphenol bằng phương pháp sắc ký dùng cột thủy tinh với vật liệu lọc là silicagel.

#### 2.2.2 Khảo sát quá trình tinh sạch polyphenol từ bã cà phê bằng phương pháp sắc ký cột

– Tiến hành nhồi cột sắc ký với 20g silicagel (230 – 400 mesh), kích thước cột (20 × 1,1 cm). Các hệ dung môi được khảo sát: hexane/ethyl acetate (8/2), chloroform/methanol (8/2), chloroform/n-butanol (8/2), toluene/acetone (8/2). Sau khi chọn được hệ dung môi phù hợp, tiến hành khảo sát tỉ lệ của hệ dung môi (9/1; 8/2; 7/3, 6/4) và xác định phân đoạn thu nhận polyphenol có hàm lượng và độ tinh sạch cao nhất.

#### 2.2.3 Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa từ bã cà phê

Khả năng chống oxy hóa được xác định bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH. Dung dịch DPPH 150  $\mu\text{M}$  được pha trong methanol 80%. Hỗn hợp phản ứng gồm 200  $\mu\text{L}$  DPPH 150  $\mu\text{M}$  và 25  $\mu\text{L}$  dung dịch mẫu đo ở các nồng độ khảo sát khác nhau. Phản ứng được thực hiện trong đĩa 96 giếng, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm, trong thời gian 10 phút/1 lần đo. Trolox được sử dụng làm đối chứng dương.

#### 2.2.4 Xác định hoạt tính kháng nấm mốc, kháng khuẩn

Phương pháp MIC (Minimum inhibitory concentration) nhằm xác định nồng độ ức chế tối thiểu của các loại polyphenol đối với nấm mốc, vi khuẩn thông qua sự khuếch tán polyphenol trên môi trường thạch. Phương pháp này được tóm tắt như sau (Lieu *et al.*, 2018): môi trường PDA, TSA đã được hấp tiệt trùng ở 121°C/15 phút được đổ vào đĩa petri đã được hấp tiệt trùng, mỗi đĩa 16 mL. Các đĩa môi trường này được chuẩn bị trước 24 giờ để loại bỏ những đĩa bị nhiễm. Bào tử nấm mốc, vi khuẩn được điều chỉnh để có nồng độ  $10^6$  bào tử/mL trước khi cấy lên đĩa thạch và để khô trong 5 phút. Hút 10  $\mu\text{L}$  nhũ dịch với các nồng độ được lựa chọn nhỏ trực tiếp vào giữa mỗi đĩa, sau đó các đĩa được ủ ở nhiệt độ 30°C (khuẩn, mốc). Mẫu đối chứng là mẫu được nhỏ 10  $\mu\text{L}$  nhũ không chứa polyphenol. Sau 24 giờ ủ, đo đường kính vòng kháng nấm, kháng mốc ở mỗi đĩa. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đo đường kính vòng kháng nấm hình thành sau 24 giờ, nồng độ polyphenol thấp nhất có hình thành vòng kháng nấm, kháng khuẩn là MIC.

## 2.3 Phương pháp phân tích

### 2.3.1 Xác định hàm lượng phenolic tổng số

Nguyên tắc: phương pháp này dựa trên khả năng phản ứng với các hợp chất polyphenol của thuốc thử Folin-Ciocalteu (Eze and Nwanguma, 1996). Dung dịch cần đo được pha loãng ở nồng độ phù hợp. Sau đó, hút 0,5 mL dung dịch mẫu đã pha loãng vào ống nghiệm. Thêm vào 2,5 mL dung dịch Folin-Ciocalteu (pha loãng 10 lần), tiến hành đồng nhất mẫu, thêm tiếp 2,0 mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% và lắc đều. Để dung dịch mẫu cần đo ở nhiệt độ phòng trong bóng tối 2 giờ. Sau đó đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 760 nm. Acid gallic được dùng làm chất chuẩn. Hàm lượng phenolic tổng số (PP) được quy đổi về giá trị khối lượng chất chuẩn acid gallic equivalent (mgGAE/g) trong 100g chất khô bã cà phê.

### 2.3.2 Xác định hàm lượng flavonoid

Nguyên tắc: Dựa vào đặc tính bắt màu mạnh của các flavonoid với kim loại  $\text{Al}^{3+}$  thường được sử dụng để khảo sát vì nó là kim loại tạo phức màu mạnh và không độc hại. Dung dịch cần đo được pha loãng ở nồng độ phù hợp, sau đó hút 0,5 mL dung dịch đã pha loãng vào các ống nghiệm, thêm tiếp 0,3 mL dung dịch  $\text{NaNO}_2$  5%, để yên trong 5 phút, tiếp tục cho vào ống nghiệm 0,3 mL  $\text{AlCl}_3$  10% để phản ứng xảy ra thêm trong 5 phút, thêm tiếp vào hỗn hợp 2 mL  $\text{NaOH}$  2M. Tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ các hợp chất flavonoid có trong dịch (Singleton *et al.*, 1999). Hàm lượng flavonoid tổng số (TFC) được quy đổi về giá trị khối lượng chất chuẩn quercetin (mgQE/g) trong 100g chất khô bã cà phê.

## 2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình  $\pm$  giá trị sai số. Kết quả được tính toán bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và phần mềm thống kê JMP 10.0. Kết quả phân tích ANOVA với độ tin cậy 95%, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức qua phép thử LSD.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Tinh sạch polyphenol từ dịch trích ly của bã cà phê

#### 3.1.1 Ảnh hưởng của loại hệ dung môi

Kết quả khảo sát 4 hệ dung môi (sắc kí bảng mỏng dưới đèn UV) cho thấy: hệ hexane/ethyl

acetate cho kết quả phân tách kém, các vạch trùng nhau và không có sự phân tách giữa các chất. Hệ chloroform/methanol, chloroform/n-butanol cho kết quả các vết bị kéo dài, cho thấy hai hệ này có độ phân cực lớn không thích hợp cho việc phân tách các polyphenol. Hệ toluene/acetone, cho thấy kết quả phân tách tốt, các vết phân tách rời nhau, không kéo dài. Do đó, hệ toluene/acetone được chọn làm hệ dung môi cho quá trình tinh sạch polyphenol bằng sắc ký cột silicagel. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu của (Rastija *et al.*, 2004), khi sử dụng hệ dung môi toluene/acetone cho quá trình phân tích các hợp chất polyphenol trong rượu vang đỏ Croatia bằng phương pháp sắc ký bản mỏng, nghiên cứu của Lea trong phân tích các hợp chất polyphenol trong rượu táo (Lea, 1978).

#### 3.1.2 Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi

Để tách các hợp chất ra khỏi cao chiết cần phải sử dụng hệ dung môi có độ phân cực phù hợp. Kết quả cho thấy ở tỷ lệ dung môi toluene/acetone (6/4) có độ phân cực lớn, phần lớn các chất bị kéo lên, các vạch trùng nhau dẫn đến hình thành vết kéo dài, hiệu quả phân tách không tốt. Ở tỷ lệ toluene/acetone (7/3), khả năng phân tách vẫn chưa tốt, các vạch tuy có phân tách nhưng không rõ ràng. Tỷ lệ toluene/acetone (8/2) cho kết quả phân tách tốt, các vạch phân tách tương đối rõ ràng, thích hợp cho việc được chọn làm dung môi tinh sạch các polyphenol. Với tỷ lệ toluene/acetone (9/1), dung môi có độ phân cực tương đối thấp, hầu như không thấy được sự phân tách giữa các chất. Như vậy, hệ dung môi toluene/acetone (8/2) được chọn làm dung môi cho quá trình tinh sạch polyphenol bằng phương pháp sắc ký cột silicagel.

#### 3.1.3 Xác định phân đoạn thu mẫu

Từ kết quả thí nghiệm 3.1.1, 3.1.2, tiến hành chạy cột sắc ký silicagel lần lượt thu các phân đoạn. Theo dõi phân đoạn thu mẫu bằng sắc ký bản mỏng (TLC). Các phân đoạn lần lượt được thu và đánh số thứ tự, mỗi phân đoạn thu 100 mL. Tiến hành đo hàm lượng phenolic tổng và độ tinh sạch của các phân đoạn thu được (Bảng 1). Kết quả trên cho thấy, phân đoạn 4, 5, 6, 7 có hàm lượng phenolic tổng và độ tinh sạch cao. Từ phân đoạn thứ 12, hệ dung môi được tăng lên theo tỷ lệ toluene/acetone (7/3). Tuy nhiên, lượng polyphenol thu được và độ tinh sạch tương đối thấp. Điều đó cho thấy rằng phần lớn lượng polyphenol đã được rửa giải ở các phân đoạn trước đó, cụ thể là ở phân đoạn 4, 5, 6, 7.

**Bảng 1: Các phân đoạn thu được sau khi qua sắc ký cột silicagel**

Phân đoạn	Hàm lượng phenolic tổng (mgGAE)	Độ tinh sạch (%)	Phân đoạn	Hàm lượng phenolic tổng (mgGAE)	Độ tinh sạch (%)
1	27,57 ± 1,21	7,14 ± 0,19	11	19,86 ± 2,21	17,18
2	28,7 ± 0,89	13,46 ± 0,22	12	32,24 ± 1,71	28,76 ± 0,76
3	32,48 ± 1,21	22,94 ± 0,43	13	10,87 ± 0,17	10,96 ± 0,12
4	57,82 ± 1,65	48,43 ± 1,47	14	9,44 ± 0,26	9,72 ± 0,21
5	92,99 ± 4,49	59,95 ± 3,54	15	6,88 ± 0,67	6,48 ± 0,61
6	95,51 ± 3,11	71,33 ± 2,86	16	6,33 ± 0,21	5,66 ± 0,24
7	94,25 ± 4,21	76,81 ± 2,71	17	6,46 ± 0,38	6,65 ± 0,42
8	33,92 ± 1,22	37,61 ± 1,01	18	6,12 ± 0,23	5,23 ± 0,14
9	33,42 ± 1,34	28,06 ± 0,87	19	6,16 ± 0,73	5,44 ± 0,16
10	23,34 ± 1,42	19,63 ± 0,77			

**3.2 Đặc tính của polyphenol thu nhận từ bã cà phê**

*3.2.1 Hàm lượng flavonoid*

Flavonoid là chất có hoạt tính sinh học đáng chú ý bậc nhất trong nhóm các hợp chất polyphenol. Việc nghiên cứu và chứng minh các tính chất chức năng của flavonoid thu hút sự quan tâm của rất nhiều nhà khoa học trong nước và trên thế giới. Trong nghiên cứu này, hàm lượng flavonoid trong dịch trích được trích ly bằng ethanol, bột polyphenol sau khi sấy phun cũng được khảo sát, kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

**Bảng 2: Hàm lượng flavonoid trong bã cà phê, dịch trích, bột polyphenol**

Mẫu	Hàm lượng flavonoid (mgQE/g chất khô)
Dịch trích	7,69 ± 0,176
Bột polyphenol	4,71 ± 0,597

Bột polyphenol cho hàm lượng flavonoid 4,71 (mgQE/g) thấp hơn trong dịch trích từ bã cà phê 7,69 (mgQE/g). Nguyên nhân trong quá trình sấy phun, hàm lượng flavonoid có thể bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ sấy (Murugesan and Orsat, 2011), và có thể do hiệu suất trích ly <100%. Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Mussatto và cộng sự trên đối tượng bã cà phê khi trích ly với dung môi methanol 80%, tỷ lệ dung môi là 1/25 (w/v) cho hàm lượng flavonoid là 2,09 (mgQE/g chất khô), với dịch trích methanol 20% tỷ lệ dung môi là 1/40 (w/v) cho hàm

**Bảng 3: Giá trị SC<sub>50</sub> trên từng mẫu khảo sát**

Mẫu	Giá trị SC <sub>50</sub> (µg/mL)	Mẫu	Giá trị SC <sub>50</sub> (µg/mL)
Dịch trích	53,78 ± 4,65	Dịch sau tinh sạch	41,97 ± 3,14
Bột polyphenol	101,43 ± 5,34	Trolox	6,33 ± 0,08

Kết quả thu được từ (Bảng 3) cho thấy, khả năng chống oxy hóa của dịch trích và dịch sau tinh sạch tương đối cao với giá trị SC<sub>50</sub> đạt lần lượt là 53,78 ± 4,65 (µg/mL) và 41,97 ± 3,14 (µg/mL) so sánh với đối chứng dương trolox 6,33 ± 0,08 (µg/mL). Kết

lượng flavonoid là 1,17 (mgQE/g chất khô) (Mussatto *et al.*, 2011). Ballesteros và cộng sự đã công bố hàm lượng flavonoid tìm thấy trong dịch chiết có hàm lượng 1,87±0,11 (mgQE/g chất khô) trên nên bã cà phê (Ballesteros *et al.*, 2017). Do *et al.*, 2014 thực hiện nghiên cứu trên đối tượng *Limnophila aromatic* về ảnh hưởng của dịch trích đến hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng và hoạt tính kháng oxy hóa. Tác giả đã đưa ra kết luận về dung môi chiết cho hàm lượng flavonoid tổng cao nhất là ethanol 100%: 31,11 (mgQE/g chất khô). Hàm lượng flavonoid tổng giảm dần khi chiết bằng các dung môi khác nhau: 100% ethanol > 100% acetone > 75% acetone > 75% methanol > 100% methanol > 75% ethanol > 50% ethanol > 50% acetone > 50% methanol > nước (Do *et al.*, 2014). Như vậy, hàm lượng flavonoid trong nghiên cứu này cao hơn so với với một số công bố trước đó, điều này có thể do sự hỗ trợ của vi sóng và siêu âm, cũng như dung môi trích ly bã cà phê được sử dụng là ethanol làm tăng hiệu quả quá trình trích ly phenolic tổng nói chung và flavonoid nói riêng.

*3.2.2 Hoạt tính chống oxy hóa*

Hoạt tính chống oxy hóa cũng là một hoạt tính đặc trưng của dịch trích polyphenol. Khả năng bắt gốc tự do của polyphenol đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu trước đây. Bảng 3 trình bày kết quả xác định khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch trích ly, bột polyphenol, dịch trích ly sau tinh sạch bằng sắc ký cột silicagel.

quả thu được này tương tự như kết quả nghiên cứu của Yakoub *et al.* (2018) cho thấy dịch trích polyphenol trong nguyên liệu *Corchorus olitorius* L. có giá trị SC<sub>50</sub> đạt từ 48,66 – 54,44 (µg/mL) trong các loại dung môi khác nhau được khảo sát.



3.2.3 Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm mốc

Theo các nghiên cứu trước đây, các hợp chất polyphenol có khả năng ức chế một số loài vi khuẩn và nấm mốc, hiệu quả ức chế này phụ thuộc vào

nồng độ polyphenol có trong mẫu (Nibir *et al.*, 2017), được thể hiện thông qua đường kính vòng kháng khuẩn và đường kính vòng kháng nấm mốc. Kết quả được thể hiện ở (Bảng 4).

**Bảng 4: Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm mốc của các loại mẫu khảo sát**

Mẫu	Nồng độ ức chế (µg/mL)	Đường kính vòng kháng khuẩn <i>E. coli</i> (mm)	Đường kính vòng kháng mốc <i>A. niger</i> (mm)	Mẫu	Nồng độ ức chế (µg/mL)	Đường kính vòng kháng khuẩn <i>E. coli</i> (mm)	Đường kính vòng kháng mốc <i>A. niger</i> (mm)
Dịch	45	9,0 ± 1,1	-	Bột chế	45	-	-
trích	60	12,0 ± 1,1	-	phẩm	60	6,1 ± 1,3	-
	75	16,1 ± 1,0	8,2 ± 1,0	polyphenol	75	10,2 ± 1,4	6,2 ± 1,1

Nồng độ tối thiểu (MIC) ức chế vi khuẩn *E. coli* là 45 µg/mL có đường kính vòng kháng khuẩn là 9,0 ± 1,1 (mm). Từ Bảng 4 cho thấy, nồng độ polyphenol càng cao thì vòng kháng khuẩn càng lớn, dịch trích có hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với chế phẩm bột polyphenol. Điều này có thể giải thích trong quá trình sấy phun thì nhiệt độ có thể là tác nhân ảnh hưởng đến tính chất của chế phẩm bột polyphenol. Ngoài ra, polyphenol là hợp chất rất nhạy cảm với các điều kiện môi trường như: oxy, không khí, ánh sáng, nhiệt độ nên trong quá trình bảo quản chế phẩm bột polyphenol, các yếu tố này đã làm giảm hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm này. Cụ thể, ở nồng độ dịch trích polyphenol 45 (µg/mL) thì đường kính là 9,0 ± 1,1 (mm), trong khi đó ở cùng nồng độ này, chế phẩm bột polyphenol không có khả năng kháng khuẩn. Với nồng độ cao nhất của dịch trích polyphenol ở 75 (µg/mL) thì đường kính vòng kháng khuẩn đạt là 16,1 ± 1,0 (mm), tuy nhiên ở chế phẩm bột polyphenol chỉ đạt 10,2 ± 1,4 (mm). Điều này chứng tỏ dịch trích polyphenol có khả năng kháng khuẩn tốt hơn chế phẩm bột polyphenol. Tương tự, Nibir *et al.*, (2017) đã nghiên cứu trên đối tượng các giống trà xanh khác nhau của Bangladesh cho thấy polyphenol của chè có khả năng kháng các loài vi khuẩn như: *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*), *Shigella boydii* (*S. boydii*), *Salmonella typhi* (*S. typhi*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Salmonella paratyphi* (*S. paratyphi*), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *Vibrio cholera* (*V. cholera*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Nghiên cứu cho thấy, với hàm lượng polyphenol khác nhau sẽ cho đường kính vòng kháng khuẩn khác nhau, hàm lượng polyphenol càng cao thì đường kính vòng kháng khuẩn càng lớn. Điển hình như trên giống trà xanh với hàm lượng polyphenol là 575 (µg/mL) thì đường kính vòng kháng khuẩn đối với *E. coli* là 14 (mm) (Nibir *et al.*, 2017). Yakoub *et al.*, 2018 đã nghiên cứu hàm lượng flavonoid, polyphenol, hoạt tính kháng oxy hóa, hoạt tính kháng khuẩn trên (*Corchorus olitorus*

L.). Tác giả đã đưa ra kết luận rằng hoạt tính kháng khuẩn ở các nồng độ khác nhau có khả năng ức chế khác nhau trên 2 chủng vi khuẩn Gram (-) và Gram (+). Trích ly bằng dung môi ethanol cho hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn trích ly bằng nước/ethanol và nước. Đường kính vòng kháng khuẩn trên *E. coli* ở hai nồng độ 25 (mg/mL), 50 mg/mL (dung môi ethanol) đạt đường kính lần lượt là: 5,5 ± 0,7 (mm), 14,75 ± 1,76 (mm) (Yakoub *et al.*, 2018).

Đối với nấm mốc *A. niger* có nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 75 (µg/mL) với đường kính vòng kháng mốc là 8,2 ± 1,0 (mm). Từ Bảng 4 cho thấy, khả năng ức chế nấm mốc *A. niger* còn hạn chế, chỉ ở nồng độ cao là 75 (µg/mL) mới có khả năng loại nấm mốc này. Cụ thể như sau, đối với dịch trích ở nồng độ 75 (µg/mL) thì đường kính vòng kháng mốc là 8,2 ± 1,0 (mm), trong khi đó đối với chế phẩm bột polyphenol thì đường kính vòng kháng mốc là 6,2 ± 1,1 (mm). Điều này có thể lý giải rằng trong quá trình sấy phun nhiệt độ, ánh sáng ảnh hưởng một phần lên tính chất kháng mốc của polyphenol. Tương tự, Chen *et al.*, 2013 đã thực hiện nghiên cứu trên đối tượng lá *Jerusalem Helianthus tuberosus* L. về hoạt tính kháng mốc của polyphenol. Tác giả đã đưa ra kết luận rằng nồng độ acid caffeic, 3-CQA, 3,4-DiCQA và 1,5-DiCQA, 3,5-DiCQA, 4,5-DiCQA có hoạt tính kháng mốc *G. zae* với giá trị MIC lần lượt là: 180, 290, 60, 80, 4,2, 180 (µg/mL). Đối với nấm mốc *Exserohilum turicum* (*E. turicum*) thì nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các hợp chất acid caffeic, 3-CQA, 3,4-DiCQA và 1,5-DiCQA, 3,5-DiCQA, 4,5-DiCQA lần lượt là 215, 290, 120, 80, 210, 180 (µg/mL) (Chen *et al.*, 2013). Rashed *et al.* (2014) đã thực hiện nghiên cứu trên đối tượng *Diospyros virginiana* L. để xác định hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm mốc và tổng hàm lượng polyphenol khi chiết bằng dung môi methanol. Tác giả đã đưa ra kết luận rằng, chiết xuất bằng methanol của *Diospyros virginiana* L. cho thấy tất cả nhóm hợp chất flavonoid aglycones (myricetin, quercetin, và luteolin) cho hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm mốc tốt hơn so với

methyl galate, acid gallic và các flavonoid glycosides khác (myricetin 3-*O*- $\beta$ -glucuronide, myricetin 3-*O*- $\beta$ -glucoside, myricetin 3-*O*- $\alpha$ -rhamnoside). Trong số các hợp chất trên, hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn cũng như hoạt tính kháng nấm cao nhất là myricetin, tiếp theo là quercetin và luteolin (Rashed *et al.*, 2014).

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ dung môi toluene/acetone (8/2) thích hợp cho quá trình tinh sạch polyphenol từ bã cà phê. Hoạt tính kháng oxy hóa của bột polyphenol sau sấy phun có giá trị cao nhất đạt  $101,43 \pm 5,34$  ( $\mu\text{g/mL}$ ). Dịch trích và bột chế phẩm polyphenol đều có hoạt tính kháng khuẩn (*E. coli*) và kháng nấm mốc (*A. niger*) được thể hiện thông qua đường kính vòng kháng khuẩn. Như vậy có thể thấy, bã cà phê là một nguồn nguyên liệu tiềm năng, giúp mở ra một hướng đi mới trong việc ứng dụng vào thực phẩm chức năng, cũng như góp phần làm giảm lượng phế phẩm bã cà phê, nâng cao giá trị cho ngành cà phê hòa tan.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ballesteros, L.F., Mónica, J.R., Carlos E.O., José, A.T. and Solange, I.M., 2017. Optimization of autohydrolysis conditions to extract antioxidant polyphenol compounds from spent coffee grounds. *Journal of Food Engineering*. 199: 1-8.
- Chen, F., Long, X., Yu, M., Liu, Z., Liu, L. and Shao, H., 2013. Polyphenols and antifungal activities analysis in industrial crop Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves. *Industrial Crops and Products*. 47: 339-345.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen P. L., et al., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3): 296-302.
- Eze, M.O. and Nwanguma, B.C., 1996. Changes in the concentrations of the polypolyphenol constituents of sorghum during malting and mashing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 70(2): 162-166.
- Lea, A.G., 1978. The phenolics of ciders: oligomeric and polymeric procyanidins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 29(5): 471-477.
- Lewin, B., Giovannucci, D. and Varangis, P., 2007. Coffee markets: new paradigms in global supply and demand. *World Bank Agriculture and Rural Development Discussion Paper*. 3:1-150.
- Lieu, D.M., Dang, T.T.K. and Nguyen, H.T., 2018. Enhance the anti-microorganism activity of cinnamon oil by xanthan gum as emulsifying agent. *AIP Conference Proceedings*. 1954(1): 17-40.
- Murugesan, R. and Orsat, V., 2011. Spray drying of elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice to maintain its polyphenol content. *Journal of Drying Technology*. 29(14): 1729-1740.
- Mussatto, S.I., Linda, L.B., Silvia, M. and Jose, A.T., 2011. Extraction of antioxidant polyphenol compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*. 83: 173-179.
- Nibir, Y.M., Sumit, A.F., Anwarul, A.K., Nazmul, A. and Mohammad, S.H., 2017. Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(4): 352-357.
- Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G. and Petrucci, R., 2013. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(17): 4162-4168.
- Pelupessy, W., 2003. Environmental issues in the production of beverages: global coffee chain. *Environmentally Friendly Food Processing*. Woodhead Publishing Limited. Boca Raton FL, pp. 95-113.
- Rastija, V., Mornar, A., Jasprica, I., Srećnik, G. and Marica, M-S., 2004. Analysis of polyphenol components in Croatian red wines by thin-layer chromatography. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. 17(1): 26-31.
- Rashed, K., Ćirić, A., Glamočlija, J. and Soković, M., 2014. Antibacterial and antifungal activities of methanol extract and polyphenol compounds from *Diospyros virginiana* L. *Industrial Crops and Products*. 59: 210-215.
- Singleton, V.L., Rudolf, O. and Rosa, M.L., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.
- Yakoub, A.R.B., Abbehedi, O., Jridi, M., Elfalleh, W., Nasri, M. and Ferchichi, A., 2018. Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). *Industrial Crops and Products*. 118: 206-213.