

TỐI ƯU QUI TRÌNH CHIẾT CAO TỪ VỎ HẠT ĐIỀU, XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HOẠT CHẤT CHÍNH TRONG CAO CHIẾT NHẪM ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG DIỆT CÔN TRÙNG GÂY HẠI HIỆU QUẢ

Phùng Thị Kim Huệ^{1*}, Lê Trí Viễn¹, Lê Dũng Sỹ¹,

Hồ Viết Hiếu^{1,3}, Hoàng Hà², Hồ Ngọc Gia⁴, Phạm Thị Khoa^{1,3}

TÓM TẮT

Nghiên cứu này, lấy vỏ hạt điều làm nguồn nguyên liệu, tối ưu hoá quy trình chiết cao bởi các chỉ tiêu: dung môi chiết, tỷ lệ dung môi so với mẫu, nhiệt độ chiết mẫu, thời gian chiết mẫu. Kết quả thu được, ở nhiệt độ 50°C- 60°C, thời gian chiết là 3h, dung môi chiết lần 1, lần 2 là n-hexane, và lần 3 là ethanol 95% thì đạt hiệu suất chiết tối đa là 25,4%. Quy trình chiết này được chứng minh đã đạt được độ ổn định. Bằng phương pháp GC/MS phân tích định lượng cao chiết vỏ hạt điều cho thấy có anacardic acid chiếm 39,59%, cardol chiếm 11,38%, methyl cardol chiếm 7,31% và một số hợp chất khác. Tinh sạch để thu hoạt chất, đã chiết bằng n-hexan và làm khan bằng Na₂SO₄ thì thu được 42,8% anacardic acid trong cao chiết, hoạt chất này cho hiệu lực diệt bọ gây muỗi *Aedes aegypti* (vector chính truyền virus gây bệnh sốt xuất huyết và Zika) đạt đến 100% ở nồng độ 0,05 mg/l sau 120 phút. Như vậy, vỏ hạt điều là một nguồn tài nguyên tái tạo đầy hứa hẹn để sản xuất chế phẩm sinh học mới có khả năng diệt côn trùng gây hại hiệu quả.

Từ khóa: Chất thải nông nghiệp, anacardic acid, vỏ hạt điều, côn trùng gây hại, tối ưu hoá quy trình chiết.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây điều (*Anacardium occidentale* L.), thuộc họ Anacardiaceae còn gọi là cây đào lộn hột, là một loài cây nhiệt đới. Phần vỏ ngoài chiếm 70% khối lượng hạt, bên trong chứa dầu. Khối lượng dầu vỏ hạt điều khoảng 21% khối lượng hạt. Thành phần trong vỏ hạt điều có hai chất chính là axit anacardic chiếm 90% và cardol là 10% (Carr et al. 2014).

Axit anacardic (AA) có mùi nồng và thơm, dễ bị khử nhóm cacboxyl khi đun nóng tạo thành cardanol, axit anacardic là một chất quan trọng, quyết định giá trị dầu vỏ hạt điều thương mại (Carr et al. 2014). Tinh dầu vỏ hạt điều có thể được ứng dụng làm thuốc trừ sâu rất có hiệu quả nhờ tác dụng kháng khuẩn, nấm mốc, mối mọt và nhiều phản ứng khác nhau đã được phát triển để chuyển đổi các thành phần của chất lỏng vỏ hạt điều thành các hóa chất quan trọng trong công nghiệp đã cho ra những sản phẩm thương mại (Morais et al., 2017). Song cho đến nay chưa có nhiều nghiên cứu sử dụng nó để chế tạo thành chế phẩm sinh học diệt côn trùng.

Theo thống kê năm 2020, Việt Nam có khoảng 300 nghìn ha điều, sản lượng hạt đạt khoảng 450 nghìn tấn. Trong khi đó vấn đề thu hồi sử dụng dầu vỏ hạt điều ở nước ta hiện chưa được quan tâm đúng mức. Tại Gia Lai, mỗi năm (2019), có hơn 20.000 ha điều, với sản lượng 17.000 tấn mỗi năm và một lượng lớn hạt nhập khẩu, tỉ lệ vỏ 75% thì lượng phế thải vỏ hạt của loại cây nông nghiệp này là vô cùng lớn nhưng chưa được đưa vào bất cứ ứng dụng nào (Phùng Thị Kim Huệ và CS, 2019). Nghiên cứu này lần đầu tiên sử dụng nguồn nguyên liệu phế thải từ vỏ hạt điều tại Gia Lai, tối ưu hoá quy trình chiết và tách hoạt chất để sử dụng nó tạo chế phẩm sinh học mới diệt côn trùng gây hại.

Trước tình hình dịch bệnh ngày càng phức tạp, đặc biệt là bệnh sốt xuất huyết và Zika được truyền bởi muỗi *Aedes aegypti*, phòng chống muỗi bằng hóa chất hiện nay vẫn được cho là sử dụng nhiều và hiệu quả nhất. Tuy vậy, khả năng kháng hóa chất diệt của côn trùng vẫn là vấn đề nan giải, nên xu hướng tìm kiếm các tác nhân phòng chống đặc hiệu mà ít có khả năng kháng là các chiết xuất từ thực vật. Với mục tiêu chế tạo được chế phẩm sinh học có nguồn gốc thực vật diệt côn trùng có hại hiệu quả, chiết xuất vỏ hạt điều có thể là một định hướng tiềm năng.

¹Viện Nghiên cứu Sức khỏe và phát triển Giáo dục Tây Nguyên

²Trường Đại học Duy Tân

³Công ty Cổ phần khoa học về côn trùng Hà Nội

⁴Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Gia Lai

*Email: whitelily109@gmail.com

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

-Bọ gậy 3 tuổi của muỗi *Aedes aegypti*, vỏ cứng hạt cây điều thu gom tại tỉnh Gia Lai.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Vỏ hạt điều được thu gom từ các địa phương ở tỉnh Gia Lai vào tháng 7 năm 2020. Các vật liệu được làm khô ở điều kiện bóng râm trong 2 ngày và sau đó loại bỏ các vật liệu thối rữa và nhiễm nấm mốc. Các mẫu được chọn đem đập thành các mảnh nhỏ và sau đó được nghiền thành bột cỡ hạt 1 mm bằng máy nghiền trong phòng thí nghiệm.

2.2.1. Tối ưu hoá quy trình chiết vỏ hạt điều quy mô phòng thí nghiệm

Khảo sát lượng dung môi và số lần chiết: 50 gam bột vỏ hạt điều được nạp vào bình cầu 1 lít, bổ sung các dung môi chiết n-hexane, ethylacetate, acetone, cồn 95%, n-hexane - cồn 95% để xác định hiệu suất chiết tối ưu, khảo sát tỉ lệ dung môi trên mẫu với thể tích khác nhau (400, 500 và 650 ml), đun ở 50°C trong 3h, cạn được chiết thêm lần 2 và lần 3 ở loại dung môi cho hiệu suất chiết cao nhất trong thí nghiệm trên, cất loại dung môi thu được cao chiết tương ứng với từng lượng dung môi. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Nhiệt độ chiết: 50 g mẫu bột vỏ cho vào bình cầu 1 lít, được chiết với 250 ml dung môi với n-hexane, ở nhiệt độ khác nhau (nhiệt độ phòng, 40, 50, 60 và 70°C) trong thời gian 3h có khuấy. Lọc dịch chiết, bã được chiết thêm 1 lần nữa với 250 ml n-hexane, sau đó bã tiếp tục được chiết lần 3 với cồn 95% với điều kiện chiết như trên. Cất loại bỏ dung môi trong chân không ở 50°C, thu được cao chiết tương ứng. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Khảo sát thời gian chiết: 50 g mẫu bột vỏ hạt chiết với 250 ml dung môi n-hexane, ở nhiệt độ 50-60°C trong các thời gian khác nhau (2h, 3h và 4h) có khuấy. Lọc dịch chiết, bã được chiết thêm 1 lần nữa với 250 ml n-hexane, bã được chiết lần 3 với 250 ml cồn 95%, với điều kiện chiết như trên. Gộp các dịch chiết n-hexane và cất loại bỏ dung môi trong chân không ở 50°C, cất loại bỏ cồn trong chân không ở 50°C. Thu được cao chiết với hiệu suất tương ứng. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.2. Xác định thành phần hóa học của cao chiết từ vỏ hạt điều

Để xác định thành phần và khảo sát hàm lượng các chất của cao chiết từ vỏ hạt điều, sử dụng thiết bị sắc ký khí ghép khối phổ GC- MS của Agilent, GC 7890A –MS 5975C. Cột HP5 (30m; 0,25mm; 0,25µm). Sử dụng khí mang là He. Nhiệt độ buồng bơm mẫu là 250°C, nhiệt độ đầu dò 280°C. Tỉ lệ chia dòng 1:20, mẫu được pha loãng trong n-hexan, thể tích tiêm 1µl. Chương trình nhiệt: nhiệt độ đầu 90°C, rang ở 8°C/phút đến 280°C, giữ 5 phút, sử dụng thư viện phổ NIST 2011 của máy để định danh các cấu tử trong mẫu.

Phân lập axit anacardic, lấy 50 g cao chiết xuất đem hòa tan trong axeton (300 ml), và canxi hydroxit (30 g) được thêm từng phần dưới sự khuấy đều. Sau khi hoàn thành canxi hydroxit, nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng được nâng lên 50°C và tiếp tục khuấy trong 3,5 h. Sau khi hoàn thành phản ứng, canxi anacardat kết tủa được lọc và rửa bằng axeton (160 ml), và làm khô trong 2 h. Canxi anacardate (50 g) được xử lý bằng nước cất (200 ml) và 11M HCl (40 ml) được thêm vào và khuấy liên tục trong ½ h. Dung dịch thu được được chiết bằng ete (2 x 150 ml). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước cất (2 x 100 ml), làm khô bằng natri sulfat khan, và thu được axit anacardic.

2.2.3. Khảo nghiệm hiệu lực ức chế sinh trưởng bọ gậy *Aedes aegypti* trong phòng thí nghiệm.

(Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia khảo nghiệm hóa chất, chế phẩm diệt bọ gậy của Bộ Y tế, 2014)[1].

Đánh giá hiệu lực: Tỷ lệ ức chế sinh trưởng bọ gậy và cung quảng trên mỗi nồng độ của một mẫu hóa chất, chế phẩm là giá trị trung bình của tổng các tỷ lệ ức chế ở nồng độ đó. Khi tính tỷ lệ bọ gậy chết, bọ gậy “hấp hối” được coi như bọ gậy chết. Những bọ gậy lột xác thành cung quảng trong quá trình thử nghiệm thì sẽ không được tính vào thử nghiệm.

$$(T \times 100)$$

$$\text{Tỷ lệ ức chế sinh trưởng IE\%} = 100 - \frac{\quad}{C}$$

Trong đó :

T = Tổng số cá thể sống sót và lột xác thành muỗi ở lô thử nghiệm (%)

C = Tổng số cá thể sống sót và lột xác thành muỗi ở lô đối chứng (%)

Khảo nghiệm xác định hiệu lực ức chế sinh trưởng dùng lại, khi tỷ lệ ức chế sinh trưởng IE < 80%.

Điều kiện thử nghiệm: Tại lô thử nghiệm T°: 31±1°C; H°: 65±5%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

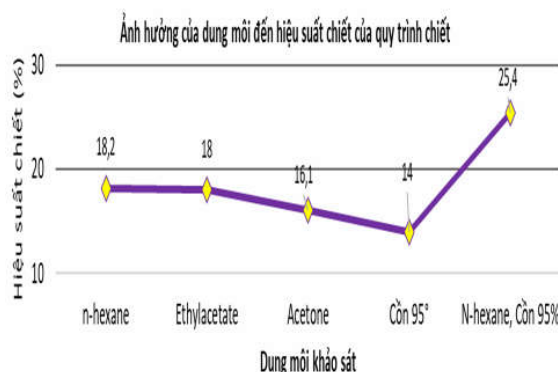
3.1. Tối ưu hoá quy trình chiết vỏ hạt điều quy mô phòng thí nghiệm

Trong các nghiên cứu đã công bố đã cho thấy vỏ hạt điều có thành phần hóa học gồm các chất phenolic (axit anacardic, cardol, methyl cardol) có độ phân cực khác nhau, hàm lượng tinh dầu khá lớn có khả năng tan tốt trong các dung môi không phân cực như n-hexane, và các dung môi phân cực như dichloromethane, ethylacetate, methanol, ethanol (Philip et al., 2008). Tiến hành khảo sát các loại dung môi có độ phân cực tăng dần gồm: n-hexane, ethylacetate, acetone, ethanol.

Kết quả ở hình 1 cho thấy, với 50g nguyên liệu bột vỏ hạt điều khi sử dụng các dung môi n-hexane và ethylacetate thì hiệu suất chiết tổng đạt từ 18,0-18,2 %. Còn đối với các dung môi phân cực hơn là acetone và cồn 95% thì hiệu suất chiết là 14-16,1%.

Khi chiết lần 1 và lần 2 bằng n-hexane, chiết lần 3 bằng cồn 95% để thu được các chất phân cực hơn thì hiệu suất chiết cao tổng tăng lên 25,4%. Qua đó cho thấy dung môi n-hexane làm dung môi

chiết lần 1, lần 2 và chiết lần 3 bằng cồn 95% sẽ cho hiệu suất chiết tối ưu (Hình 1).



Hình 1. Biểu đồ ảnh hưởng của dung môi đến hiệu suất cao vỏ hạt điều

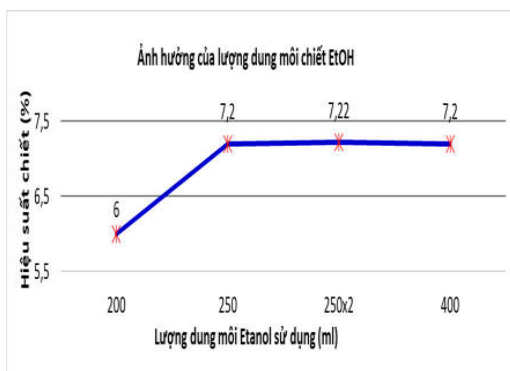
Khảo sát tỷ lệ dung môi trên mẫu (bảng 1) cho thấy, với 400 ml chiết lần 1, 2, 3 đạt hiệu suất chiết tương ứng là 8,0; 12,0; 14,2%; khi tăng lượng dung môi lên 500 ml chiết lần 1, 2, 3 đạt hiệu suất chiết tương ứng là 9,0; 18,2%; 18,35%; khi tăng lượng dung môi lên 650 ml chiết lần 1, 2, 3 đạt hiệu suất chiết tương ứng là 9,1; 18,21%; 18,4%. Như vậy, khi tăng dung môi chiết n-hexane 100ml thì hiệu suất chiết tăng dần đến tỷ lệ dung môi/mẫu = 10/1, tiếp tục tăng lượng dung môi thêm 150 ml thì hiệu suất chiết tăng không đáng kể. Do vậy chiết bằng n-hexane 2 lần, lượng dung môi 10/1 là hiệu quả nhất.

Bảng 1. Ảnh hưởng của lượng dung môi và số lần chiết bằng dung môi n-hexane

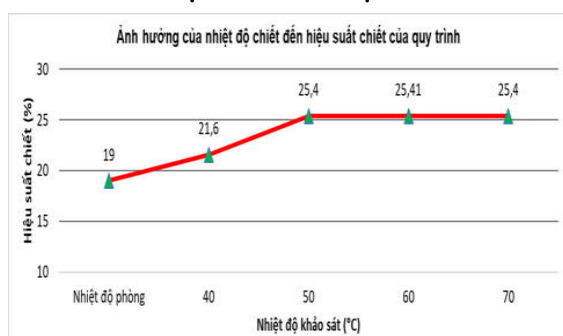
Lượng dung môi n-hexane (ml)	Khối lượng nguyên liệu ban đầu (g)	Số lần chiết	Khối lượng chế phẩm thu được (g)	Hiệu suất chiết (%)
400	50	1	4,0	8,0
400	50	2	6,0	12,0
400	50	3	7,1	14,2
500	50	1	4,5	9,0
500	50	2	9,1	18,2
500	50	3	9,15	18,35
650	50	1	4,55	9,1
650	50	2	9,12	18,21
650	50	3	9,2	18,4

Bã vỏ hạt điều sau khi chiết lấy các chất có độ phân cực kém bằng dung môi n-hexane, trong bã còn các chất phân cực nên sử dụng dung môi phân cực (MeOH, EtOH). Cồn 95% (EtOH) được chọn làm dung môi chiết có giá thành rẻ, ít độc hại, ít gây ô nhiễm môi trường.

Kết quả hình 2 cho thấy, bã vỏ hạt điều sau khi chiết n-hexane được chiết thêm với cồn 95% ở lượng dung môi/mẫu là 5/1 và chiết thêm 1 lần là phù hợp. Như vậy, chọn tỷ lệ dung môi n-hexane/mẫu là 10:1 và chiết 2 lần cho hiệu suất cao 18,2%. Bã sau đó được chiết thêm ethanol 1 lần với lượng dung môi/mẫu là 5/1 đạt hiệu suất chiết tối ưu.

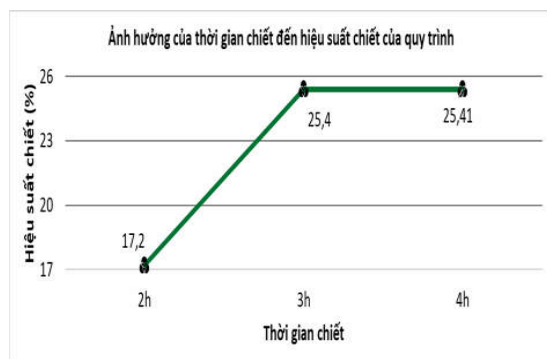


Hình 2: Biểu đồ ảnh hưởng của lượng dung môi đến hiệu suất cao vỏ hạt điều



Hình 3. Biểu đồ ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hiệu suất chiết cao vỏ hạt điều

Trong quá trình chiết, nhiệt đóng vai trò rất quan trọng đến hiệu suất chiết. Kết quả hình 3 cho thấy, khi chiết ở 50-60°C thì khối lượng cao chiết thu được đạt cao nhất 25,4-25,41% so với nguyên liệu ban đầu, còn ở nhiệt độ phòng cho hiệu suất chỉ đạt 19 %.



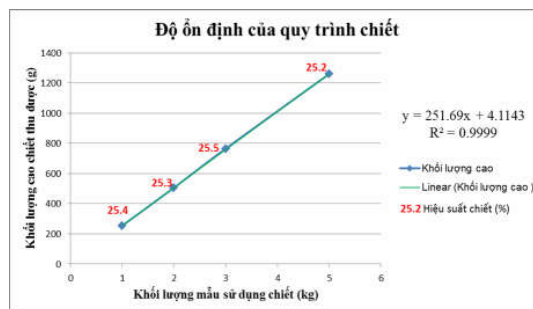
Hình 4. Biểu đồ ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất cao vỏ hạt điều

Để khảo sát thời gian chiết tối ưu, sử dụng tỷ lệ dung môi n-hexane/mẫu là 10:1 chiết 2 lần và chiết thêm ethanol 1 lần với lượng dung môi/mẫu là 5/1, đun ở 50°C trong thời gian thay đổi (2h, 3h và 4h), kết quả thu được trong hình 4.

Sau 2 h chiết, hiệu suất phản ứng đạt 17,2 %. Sau 3h chiết, hiệu suất chiết đạt 25,4%. Khi tăng thời gian chiết lên 4h thì hiệu suất chiết tăng không đáng kể (25,41 %). Tính hiệu quả kinh tế thì thời gian chiết tối ưu cho quy trình chiết chế phẩm trong 3h là phù hợp (Hình 4).

Như vậy trong điều kiện phòng thí nghiệm, với 50 g mẫu bột vỏ hạt điều được chiết với 250 ml dung môi với n-hexane ở nhiệt độ 50-60°C trong các thời gian 3h có khuấy, bã được chiết thêm 1 lần nữa với 250 ml dung môi với n-hexane, bã được chiết lần 3 với 250 ml EtOH cùng điều kiện thu được cao chiết 12,7 g (25,4%).

Như vậy trong điều kiện phòng thí nghiệm, với 50 g mẫu bột vỏ hạt điều được chiết với 250 ml dung môi với n-hexane ở nhiệt độ 50-60°C trong các thời gian 3h có khuấy, bã được chiết thêm 1 lần nữa với 250 ml dung môi với n-hexane, bã được chiết lần 3 với 250 ml EtOH cùng điều kiện thu được cao chiết 12,7 g (25,4%).



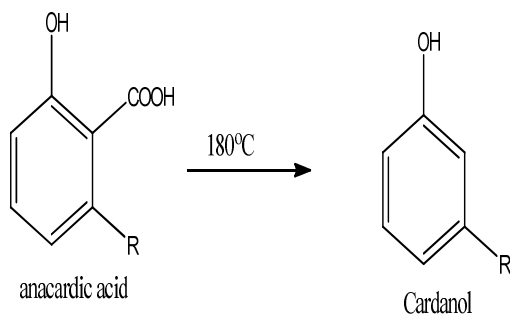
Hình 5. Biểu đồ khảo sát độ ổn định của quy trình chiết cao vỏ cứng hạt điều

Kết quả hình 5 cho thấy, khảo sát quy trình ở quy mô 1 kg, 2 kg, 3 kg và 5 kg hiệu suất chiết đạt được độ ổn định (25,3% -25,5%). Nghiên cứu của Phùng Thị Kim Huệ và CS (2019), vỏ hạt điều chiết bằng dung môi ethanol và nước, tỉ lệ dung môi trên mẫu 3/3/1, trong 48h ở 60°C cho hiệu suất chiết 16,7%. Một nghiên cứu khác sử dụng dung môi là n-hexane chiết ở nhiệt độ phòng trong 24h thu được 9% cao (Morais, 2017). Như vậy, nghiên cứu này đã phát hiện quy trình tối ưu để chiết các phenolic từ vỏ hạt điều cho hiệu suất cao (25,2%)

3.2. Kết quả phân tích cao chiết vỏ hạt điều bằng GC/MS

Cao chiết được chiết theo quy trình trên đem đi định lượng thành phần các chất hữu cơ bằng phương pháp GC/MS. Kết quả thu được xác định hàm lượng

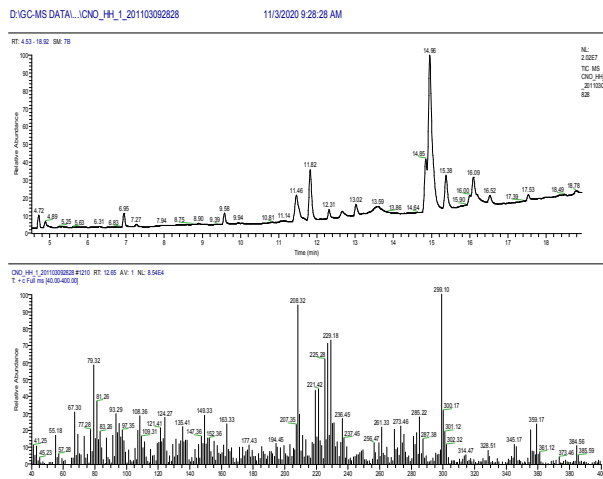
cardanol chiếm 39,59%. Axit anacardic có chứa khá nhiều trong cao chiết, khi đi vào buồng đốt (nhiệt độ rang) chuyển hóa thành cardanol. Do vậy trên sắc ký đồ chỉ nhận được phổ MS = 298 tương ứng với chất cardanol do axit anacardic ở nhiệt độ cao bị carboxylic để tạo thành cardanol. Từ đó cho biết hàm lượng axit anacardic chiếm 39,59 % trong cao chiết, quá trình chuyển hoá theo sơ đồ phản ứng như hình 6.



Hình 6. Phản ứng chuyển hóa của axit ancardic thành cardanol

Nghiên cứu đã có cho rằng cardanol được tạo thành bằng cách khử cacboxyl của axit anacardic

(Paramashivappa et al., 2001). Kết quả phân tích GC/MS thể hiện qua hình 7, hàm lượng hợp chất axit anacardic, cardanol, cardol và một số hợp chất khác.



Hình 7. Sắc ký đồ các chất trong cao vỏ hạt điều xác định bằng GC/MS

Từ sắc ký đồ thống kê hàm lượng các chất trong cao chiết vỏ hạt điều, kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả các chất trong cao vỏ hạt điều xác định bằng GC/MS

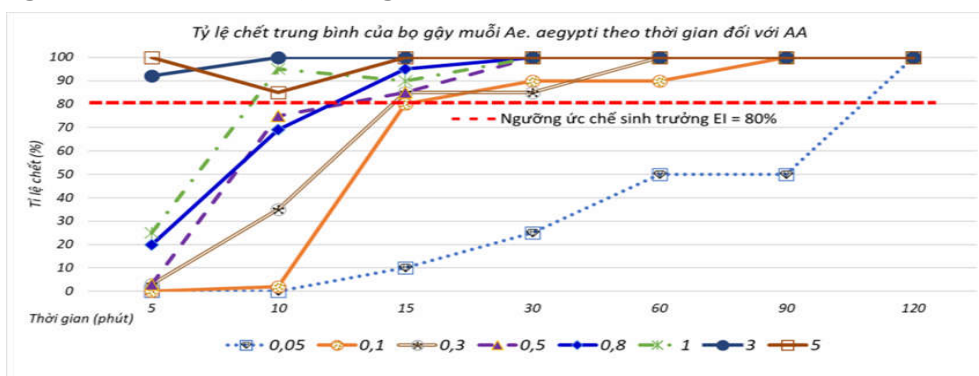
PEAK LIST						
CNO_HH_1_201103092828.raw						
RT: 0.00 – 30.13						
Number of detected peaks: 16						
Apex RT	Start RT	End RT	Area	%Area	RI	Components name
4,72	4,66	4,78	4447462	1,45		
4,89	4,83	5,1	3304727	1,07		
6,95	6,89	7,02	4858489	1,58		
9,58	9,52	9,69	4434975	1,44		
11,46	11,38	11,67	19647965	6,38	900	7,10,13-Eicosatrienoic acid
11,82	11,73	11,98	27379466	8,9	905,5	Pentadecanoic acid
12,31	12,26	12,41	3169029	1,03	913	Androstan-9-methylthio-19-ol-3,11,17-trione
12,66	12,52	12,94	7109327	2,31	918,2	Androst-4,15-dien-3,7,17-trione, 9-[[(mercapto)imino]methyl thio]-
13,02	12,94	13,14	7850431	2,55	923,7	Stearic acid
14,85	14,77	14,88	22387519	7,27	951,2	Linolelaidic acid
14,96	14,88	15,23	1.22E+08	39,59	952,9	Cardanol

15,38	15,28	15,64	22495405	7,31	959,2	Methyl cardol
16,09	15,81	16,43	35009891	11,38	970,2	Cardol
16,52	16,43	16,63	5867755	1,91		
17,53	17,48	17,62	2745604	0,89		

Kết quả GC/MC cho thấy hàm lượng axit anacardic chiếm 39,59%, cardol chiếm 11,38%, methyl cardol chiếm 7,31% và một số hợp chất khác trong vỏ hạt điều. Kết quả nghiên cứu phù hợp với báo cáo đã công bố rằng chiết xuất vỏ hạt điều trong dung môi n-hexane chứa axit anacardic, cardol, cardanol và dầu vết của methyl cardol (Wu et al. 2011). Axit anacardic có tác dụng tốt trong hoạt động chống oxy hóa khi ức chế gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), gây độc tính tế bào cao và ức chế acetylcholinesterase (AChE) (Morais et al. 2017). Ngoài ra, nó còn có các tác dụng sinh học khác như kháng khuẩn, chống viêm, kháng u, chống oxy hóa và diệt côn trùng (Morais et al., 2017). Vì vậy, nghiên cứu này, đã tiến hành tách axit anacardic ra khỏi cao chiết, từ 50g cao ban đầu đã thu được 21,4 g (42,8%)

axit anacardic. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu đã công bố chiết xuất axitanacardic từ 50g dầu vỏ hạt điều thu được 26g cao chiết (Gandhi et al, 2012). Qua đó cho thấy, vỏ hạt điều được xem là một phụ phẩm có giá trị thương mại thấp, phần lớn chúng bị thải bỏ có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường nhưng lại có tiềm năng ứng dụng rất cao như đã chứng minh trong nghiên cứu này. Việc khai thác chúng không chỉ có giá trị về mặt kinh tế mà còn góp phần xây dựng nền nông nghiệp theo chuỗi khép kín, phát triển bền vững.

3.3. Hiệu lực ức chế sinh trưởng bộ gây *Aedes aegypti* của axit anacardic trong cao chiết vỏ hạt điều.



Hình 8. Tỷ lệ chết của bộ gây muỗi *Ae. aegypti* theo thời gian dưới tác động của AA

Để đánh giá tác dụng ức chế sinh trưởng của hoạt chất được chiết từ vỏ hạt điều, sau khi tinh chế axit anacardic (AA) nghiên cứu tiến hành cho tiếp xúc với ấu trùng muỗi *Ae. aegypti*. Kết quả hình 8 cho thấy, AA có tác dụng diệt bộ gây *Ae. aegypti* tuổi 3 với nồng độ 0,05mg AA/lít H₂O (mg/l) trong 120 phút có hiệu lực diệt đạt 100%, với nồng độ 0,1mg/l thì hiệu lực ức chế vượt ngưỡng trong 15 phút. Khi tăng nồng độ 0,5 mg/l thì hiệu lực ức chế đạt mức tối ưu trong 30 phút, ở nồng độ cao hơn 3 mg/l hiệu lực diệt vượt trên ngưỡng chỉ sau 5 phút

Nghiên cứu của Phùng Thị Kim Huệ và CS (2019) cho thấy dịch chiết cao thô bằng cồn từ vỏ hạt điều có chứa 7,9% axit anacardic và có hiệu lực diệt từ 80

đến 100% ở nồng độ 0,05 ml hc/100ml H₂O đối với cả 2 loài bộ gây Anopheles và Aedes. Để tăng cường hiệu lực diệt sâu non của axit anacardic, sử dụng hạt nano lớp đôi hydroxide MgAl, mang axit anacardic cho hiệu lực diệt ấu trùng sâu khoang (*Spodoptera litura*) đạt 50% (Nguyen et al., 2014). Theo Carvalho và cộng sự, cardol được chiết từ vỏ hạt điều có tác dụng diệt ấu trùng *Aedes aegypti* mạnh (Carvalho et al., 2019). Tuy nhiên, cardol là chất gây dị ứng (Maje et al., 2001) nên khả năng sử dụng hoạt chất trong cao chiết vỏ hạt điều diệt ấu trùng muỗi có xu hướng loại bỏ cardol.

Nghiên cứu Morais et al (2017) cho rằng, axit anacardic ức chế hoạt động của enzym Glyceraldehyd

3 - phosphate dehydrogenase, một enzyme trong tế bào chủ yếu liên quan đến con đường glycolytic đóng vai trò trung tâm trong việc kiểm soát sản xuất ATP làm cho quá trình sản xuất ATP bị giảm. Đồng thời gây ra sự ức chế không cạnh tranh đối với cả yếu tố cơ chất và làm cho tính thấm của màng tế bào tăng lên dẫn đến rối loạn sự trao đổi chất, có thể đây là nguyên nhân dẫn đến khả năng ức chế sinh trưởng bọ gây của loài muỗi *Aedes aegypti*.

Kết quả trên đã thể hiện được hiệu lực phòng chống bọ gây muỗi truyền bệnh từ axit anacardic chứa hàm lượng rất cao trong vỏ hạt điều. Như vậy, hoạt chất này có thể sẽ là nguyên liệu chính để tạo chế phẩm sinh học vừa có giá trị diệt côn trùng gây hại, vừa an toàn với môi trường.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tối ưu hoá được quy trình chiết từ nguyên liệu là vỏ hạt điều thu gom tại tỉnh Gia Lai, ở nhiệt độ 50°C- 60°C, thời gian chiết là 3h, dung môi chiết lần 1, lần 2 là hexane, và lần 3 là etanol 95% cho hiệu suất chiết tối đa là 25,4%. GC/MS xác định trong cao chiết có anacardic acid chiếm 39,59%, cardol chiếm 11,38%, methyl cardol chiếm 7,31% và một số hợp chất khác. Tinh chiết axit anacardic thu được 42,8%, hoạt chất này cho hiệu lực diệt bọ gây muỗi *Aedes aegypti* đạt đến 100% ở nồng độ 0,05 mg/l sau 120 phút. Lựa chọn cao chiết vỏ hạt điều tạo chế phẩm sinh học mới có thể sẽ rất có giá trị trong phòng chống vector, đặc biệt trong quản lý môi trường sống dưới nước, khi mà có rất nhiều loài muỗi truyền bệnh đã kháng với hóa chất diệt côn trùng hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2014). Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia khảo nghiệm hóa chất, chế phẩm diệt bọ gây.
2. Carr, M. K. V. (2014). The water relations and irrigation requirements of cashew (*Anacardium occidentale* L.): a review. *Experimental Agriculture*, 50(1), 24.
3. De Carvalho, G. H. F., de Andrade, M. A., de Araújo, C. N., Santos, M. L., de Castro, N. A., Charneau, S., ... & Bastos, I. M. D. (2019). Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(6), 5514-5523.

4. Morais, S. M., Silva, K. A., Araujo, H., Vieira, I. G., Alves, D. R., Fontenelle, R. O., & Silva, A. (2017). Anacardic acid constituents from cashew nut shell liquid: NMR characterization and the effect of unsaturation on its biological activities. *Pharmaceuticals*, 10(1), 31.
5. Mgaya, J., Shombe, G. B., Masikane, S. C., Mlowe, S., Mubofu, E. B., & Revaprasadu, N. (2019). Cashew nut shell: a potential bio-resource for the production of bio-sourced chemicals, materials and fuels. *Green Chemistry*, 21(6), 1186-1201.
6. Nguyen, T. N. Q., Hua, Q. C., & Nguyen, T. T. (2014). Enhancing insecticide activity of anacardic acid by intercalating it into MgAl layered double hydroxides nanoparticles. *Journal of Vietnamese Environment*, 6(3), 208-211.
7. Gandhi, T., Patel, M., & Dholakiya, B. K. (2012). Studies on effect of various solvents on extraction of cashew nut shell liquid (CNSL) and isolation of major phenolic constituents from extracted CNSL. *Nat. Prod. Plant Resour*, 2, 135-142.
8. Hamad, F. B., & Mubofu, E. B. (2015). Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 8569-8590.
9. Prakash, A., Vadivel, V., Banu, S. F., Nithyanand, P., Lalitha, (2018). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of solvent extracts of agro-food by-products (cashew nut shell, coconut shell and groundnut hull). *Agriculture and Natural Resources*, 52(5), 451-459.
10. Philip, J. Y., Da Cruz Francisco, J., Dey, E. S., Buchweishaija, J., Mkayula, L. L., & Ye, L. (2008). Isolation of anacardic acid from natural cashew nut shell liquid (CNSL) using supercritical carbon dioxide. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(20), 9350-9354.
11. Phùng Thị Kim Huệ, Trần Lê Hải, Nguyễn Quỳnh Vy, Trần Thị Nga (2019). Khảo sát tiềm năng ứng dụng dịch chiết từ nguồn phế thải là vỏ cứng hạt cây điều trong phòng chống bọ gây muỗi truyền bệnh., *Tạp chí Rừng và môi trường* (2,3): 69-75.
12. Maje, H. A., & Freedman, D. O. (2001). Cashew nut dermatitis in a returned traveler. *Journal of travel medicine*, 8(4), 213.

13. Wu Y., He L., Zhang L., Chen J., Yi Z., Zhang J., Liu M., Pang X. (2011) Anacardic Acid (6-Pentadecylsalicylic Acid) Inhibits Tumor Angiogenesis by Targeting Src/FAK/Rho GTPases Signaling Pathway. J. Pharmacol. Exp. Ther. 339:403–411. doi: 10.1124/jpet.111.181891.

OPTIMISING EXTRACTION PROCESS FROM CASHEW NUT SHELL, DETERMINATION OF MAIN CHEMICAL COMPONENTS AND EFFECTIVENESS IN KILLING HARMFUL INSECTS

**Phung Thi Kim Hue*, Le Tri Vien, Le Dung Sy,
Ho Viet Hieu, Hoang Ha, Ho Ngoc Gia, Pham Thi Khoa**

Summary

In this study, we utilised discharged cashew nut shell, optimised the shell-extract process by the following criteria: extraction solvent, solvent/sample ratio, extraction temperature and extraction time. At the temperature of 50°C - 60°C, 3 hours of extraction time, 2 times using n-hexane solvent, 1 time using 95% ethanol, the obtained results also demonstrated a stable extract process with the maximum extraction efficiency of 25.4%. With GC/MS method, we determined that the content of anacardic acid in the extract is 39.59%, 11.38% for cardol, 7.31% for methyl cardol and other compounds. By using n-hexane for extracting and Na₂SO₄ for anhydrous, 42.8% anacardic acid. Anacardic acid showed effectiveness in killing *Aedes aegypti* larvae (arbovirus vector) up to 100% at the concentration of 0.05 mg/l after 120 minutes. This result indicated that cashew nut shell was a promising material for the manufacture of biological product in getting rid of harmful insects effectively.

Key words: *Agriculture by product, anacardic acid; cashew nut shell; harmful insects, optimising extraction process*

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Khiêm

Ngày nhận bài: 19/01/2021

Ngày thông qua phản biện: 8/02/2021

Ngày duyệt đăng: 22/02/2021