

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ENZYME CELLULASE VÀ VI SÓNG ĐẾN TRÍCH LY FUCOIDAN TỪ RONG *CERATOPHYLLUM SUBMERSUM*

A STUDY ON THE EFFECTS OF ENZYME AND MICROWAVE ON FUCOIDAN EXTRACTION FROM *CERATOPHYLLUM SUBMERSUM* ALGA

Hoàng Thị Ngọc Nhơn*, Lê Thị Thanh Thủy

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh; hoangthingocnhon1002@gmail.com

Tóm tắt - Fucoidan là một polysaccharide sulfate phức tạp có mặt trong tảo biển dưới dạng hợp chất có chứa gốc fucose, có nhiều hoạt tính sinh học quý như khả năng chống ung thư, chống viêm, chống oxy hóa, miễn dịch... *Ceratophyllum submersum* là loại rong nước ngọt chứa nhiều thành phần có hoạt tính sinh học, trong đó đáng chú ý phải kể đến fucoidan. Nghiên cứu này trình bày ảnh hưởng của hệ dung môi trong quá trình tiền xử lý mẫu, ảnh hưởng của xử lý kết hợp 2 yếu tố enzyme và vi sóng đến hàm lượng fucoidan trích ly từ rong *C. submersum* (thu nhận tại Sóc Trăng). Khảo sát hệ dung môi loại tạp – hệ 1 (methanol: chloroform: nước), hệ 2 (hexan; acetone; cồn 80%; ethanol: nước: formaldehyde), đồng thời tìm hiểu sự tác động của enzyme, vi sóng đến trích ly fucoidan. Kết quả cho thấy, hàm lượng fucoidan khi được xử lý với hệ 2 là $568,442 \pm 9,721$ ($\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$) cao hơn so với hệ 1 ($422,127 \pm 11,554$ $\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$). Hàm lượng fucoidan thu được khi có sự hỗ trợ của enzyme ($1022,22 \pm 8,680$ $\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$), vi sóng ($992,77 \pm 5,230$ $\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$), kết hợp enzyme, vi sóng: ($1484,82 \pm 3,403$ $\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$).

Từ khóa - *Ceratophyllum submersum*; enzyme cellulase; tiền xử lý; fucoidan; vi sóng

Abstract - Fucoidan, a complex polysaccharide sulfate, which contains fucose polysaccharide (FCSPs), was found in marine algae. Fucoidan has many valuable biological activities such as anti-cancer, anti-inflammatory, antioxidant, immunity... *Ceratophyllum submersum* alga contains bioactive ingredients, notably fucoidan. This study investigates the effects of solvents on removing the impurities, the effects of enzyme cellulase and microwave on fucoidan extraction from *C. submersum* (which was collected in Soc Trang province). The study also investigates the solvent for removing the impurities before fucoidan extraction - system 1 (methanol: chloroform: water), system 2 (hexane; acetone; 80% alcohol; ethanol: water: formaldehyde) as well as the effects of enzyme cellulase, microwave on fucoidan extract. The results have shown that the fucoidan content which was treated with system 2, was 568.442 ± 9.721 ($\mu\text{g/gdm}$) higher than that of using system 1 (422.127 ± 11.554 $\mu\text{g / gdm}$). The content of fucoidan is obtained with enzyme support (1022.22 ± 8.680 $\mu\text{g/gdm}$), microwave support (992.77 ± 5.230 $\mu\text{g/gdm}$), enzyme and microwave combination (1484.82 ± 3.403 $\mu\text{g/gdm}$).

Key words - *Ceratophyllum submersum*; enzyme; cellulase; pre-treatment; fucoidan; microwave

1. Giới thiệu

Rong biển chứa rất nhiều polysaccharide sinh học quý như alginate, laminaran, fucoidan với khả năng ứng dụng hết sức rộng lớn. Fucoidan là một sulfate polysaccharide di thể với thành phần cấu tạo hết sức phức tạp [1]. Fucoidan là một hợp chất đa dạng về công thức cấu tạo nên có nhiều hoạt tính sinh học đáng được quan tâm như: Kháng đông tụ máu, kháng huyết khối, kháng virus, chống kết dính tế bào, chống tạo mạch (*antiangiogenic*), kháng viêm, kháng u, kháng bổ thể (*anticomplementary*), điều biến hệ miễn dịch... là tiềm năng rất lớn trong lĩnh vực công nghiệp dược phẩm, thực phẩm bổ sung, mỹ phẩm và thực phẩm chức năng [2].

Phương pháp trích ly fucoidan thường được tiến hành theo các bước tiền xử lý khác nhau, sử dụng dung môi cho quá trình trích ly, kết tủa và sắc ký để tinh sạch fucoidan có trong dịch trích. Tiền xử lý là cần thiết để loại bỏ chất diệp lục, mannitol, muối và các hợp chất nhỏ khác. Hệ $\text{MeOH-CHCl}_3\text{-H}_2\text{O}$ với tỉ lệ (4:2:1) [1] hoặc ethanol 80-85% là hai phương pháp thường được sử dụng xử lý nguyên liệu trước khi trích ly [3]. Trích ly bằng dung môi là axit [4] hoặc nước nóng với nhiệt độ 60–100°C [5] và CaCl_2 đôi khi được sử dụng để kết tủa alginate trong quá trình chiết [6]. Việc tách chiết fucoidan bằng dung dịch axit (chẳng hạn như HCl) sẽ làm tăng hiệu suất trích ly fucoidan trên đối tượng rong [7]. Ngoài ra, có các phương pháp khác nhau cũng được phát triển để hỗ trợ quá trình trích ly fucoidan như enzyme, vi sóng, siêu âm.

Rong *Ceratophyllum submersum* (tên thường gọi: rong

đuôi chó), được tìm thấy phổ biến ở các ao, hồ, đầm lầy cũng như dòng suối chảy chậm ở các khu vực nhiệt đới và ôn đới. Ở Việt Nam, loài rong này mọc phổ biến ở các kênh, rạch, sông, suối... Tuy nhiên, hiện chúng chỉ được cho vào bể cá cảnh, gần như rất ít được sử dụng với các mục đích khác hoặc nghiên cứu để thu nhận các chất có hoạt tính sinh học của nó. Ngoài ra, theo khảo sát bước đầu trên đối tượng rong này, nhận thấy rong *C. submersum* có hàm lượng fucoidan đáng kể, có tiềm năng để thu nhận fucoidan.

Nghiên cứu này tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của enzyme đến quá trình trích ly fucoidan thông qua 3 yếu tố: tỉ lệ enzyme/ nguyên liệu, thời gian xử lý, nhiệt độ xử lý enzyme; ảnh hưởng của vi sóng qua 2 yếu tố cường độ và thời gian vi sóng. Ngoài ra, để có thể nâng cao hiệu suất trích ly, nhóm tác giả tiến hành nghiên cứu thêm về mức ảnh hưởng khi kết hợp enzyme cellulase và quá trình vi sóng đến hiệu suất trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

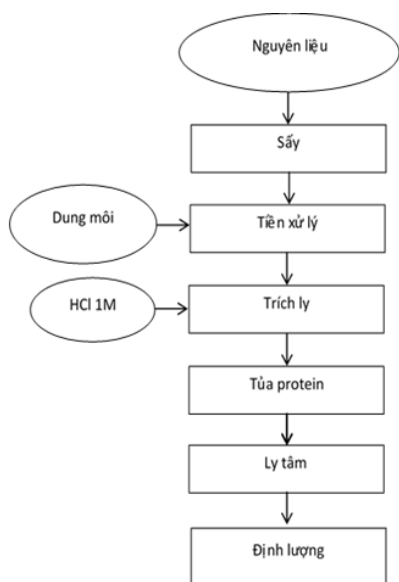
Rong *C. submersum* thuộc họ *Ceratophyllaceae*, chi *Submersum* là loại rong nước ngọt, được thu nhận ở khu vực tỉnh Sóc Trăng. Loại rong này có đặc điểm dọc theo thân cây của chúng là những vòng lá màu xanh lục sáng, thường là những bản hẹp và tạo nhánh, các lá phân nhánh này khá giòn và cứng, dễ rơi rụng trong quá trình xử lý tạp chất bụi bẩn (rửa). Sau khi thu hái, được vận chuyển trong ngày đến phòng thí nghiệm, tại đây được rửa bằng nước

máy và loại bỏ các tạp chất bám trên rong như vỏ ốc, cát... và bảo quản ở -5°C . Trong quá trình nghiên cứu, nguyên liệu được rửa đông và sấy khô ở 60°C để bảo quản, phục vụ cho thí nghiệm. Lưu ý rằng, hàm lượng nước bên trong rong nguyên liệu sẽ ảnh hưởng tới các quá trình trích ly sau (hòa loãng các tác nhân dùng để trích ly gây sai số nồng độ) nên nguyên liệu cần được sấy và xay nhỏ nhằm tối ưu hóa hiệu suất trích ly hợp chất fucoidan.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*

Sơ đồ quá trình trích ly được mô tả như Hình 1.



Hình 1. Sơ đồ quy trình trích ly fucoidan

Rong sau khi sấy khô đến độ ẩm $<10\%$ và lọc qua rây có đường kính 3mm sẽ được đem ngâm với dung môi nhằm loại bỏ lipid và các hợp chất màu. Sau quá trình trích ly bằng dung môi HCl 1M, lọc dịch chiết để thu nhận phần dịch trong đem kết tủa protein bằng TCA (axit Tricloacetic) ở 4°C trong 60 phút, ly tâm loại bỏ tủa và thu dịch trong và tiến hành định lượng fucoidan.

2.2.2. Khảo sát hệ dung môi loại tạp chất trước quá trình trích ly fucoidan

Tiến hành cân 1g rong nguyên liệu đã được sấy khô đem ngâm với hệ 1 (methanol: chloroform: nước tỉ lệ 4:2:1) hoặc hệ 2 (lần lượt cho hexan, acetone, cồn 80%, hỗn hợp ethanol: nước: formaldehyde) [8]. Sau đó, thực hiện trích ly như quy trình (Hình 1) để chọn được hệ dung môi loại tạp chất thích hợp cho quá trình trích ly fucoidan.

2.2.3. Khảo sát sự hỗ trợ của enzyme đến trích ly fucoidan từ rong *C. submersum* [9]

Cân 1g nguyên liệu (tính theo chất khô), thực hiện loại tạp bằng hệ dung môi (kết quả Mục 2.2.2). Khảo sát sự tác động của enzyme cellulase (dạng lỏng) đến quá trình trích ly fucoidan thông qua tỉ lệ enzyme/ nguyên liệu: 1/20, 2/20, 3/20 (v/w), thời gian xử lý enzyme (2h; 2,5h; 3h), nhiệt độ xử lý enzyme: 30°C , 40°C , 50°C , 60°C . Sau khi nguyên liệu được xử lý bằng enzyme, tiến hành quy trình trích ly như Hình 1 và tiến hành xác định hàm lượng fucoidan.

2.2.4. Khảo sát sự hỗ trợ của vi sóng đến trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*

Cân 1g nguyên liệu (tính theo chất khô), thực hiện loại tạp bằng hệ dung môi (kết quả Mục 2.2.2). Khảo sát ảnh hưởng của cường độ vi sóng: 700W (Low), 1600W (Medium), 2500W (High), thời gian vi sóng: 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 5 (phút). Sau khi nguyên liệu được xử lý bằng vi sóng, tiến hành quy trình trích ly như Hình 1 để xác định hàm lượng fucoidan.

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của xử lý kết hợp enzyme - vi sóng đến quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*

Tiến hành cân 1g (tính theo chất khô) rong nguyên liệu ngâm với hệ dung môi tiền xử lý (kết quả Mục 2.2.2). Khảo sát sự ảnh hưởng khi kết hợp xử lý enzyme cellulase (với tỉ lệ enzyme/ nguyên liệu 1/10 (v/w), trích trong 2 giờ, nhiệt độ 50°C) và vi sóng (cường độ 700W trong 1,5 phút) trong dung môi là nước cất một lần, tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/20 (w/v). Sau đó, tiến hành quy trình trích ly như Hình 1 để xác định hàm lượng fucoidan.

2.3. Phương pháp phân tích

Phương pháp xác định hàm lượng fucoidan bằng UV-Vis

+ Thiết lập đường chuẩn: Chất chuẩn là fucoidan được sử dụng để xây dựng đường chuẩn với nồng độ từ 10-100 $\mu\text{g/ml}$. Thêm 1ml dung dịch ở mỗi nồng độ vào các ống nghiệm. Các ống nghiệm được làm lạnh ở nhiệt độ 4°C (trong 2-3 phút). Thêm 4,5 ml axit sunfuric (85%). Các ống nghiệm được đậy nắp kín để tránh bốc hơi và các ống được đặt trong bồn nước sôi, trong thời gian 10 phút. Các ống sau đó được làm nguội dưới vòi nước, sau đó thêm 0,3 ml axit cysteine hydrochloric 0,1% vào ống nghiệm. Các ống nghiệm được đặt trong bóng tối trong 2 giờ. Sau đó, đo độ hấp thụ trên quang phổ kế ở 390 nm và 430 nm [10]. Mẫu trắng được chuẩn bị bằng phương pháp tương tự.

+ Xác định hàm lượng fucoidan: Được thực hiện theo phương pháp lập đường chuẩn, thay chất chuẩn bằng mẫu thí nghiệm.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả được xử lý với phần mềm Microsoft Excel 2013, sự khác biệt và chọn các thông số phù hợp dựa trên kết quả phân tích của phần mềm IBM SPSS Statistics 20. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của hệ dung môi loại tạp chất đến trích ly fucoidan

Ảnh hưởng của hệ dung môi loại tạp chất đến hàm lượng fucoidan trích ly được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của hệ dung môi loại tạp chất

Hệ dung môi	Lượng fucoidan ($\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$)
Hệ 1	422,127 $\pm$ 11,554
Hệ 2	568,442 $\pm$ 9,721

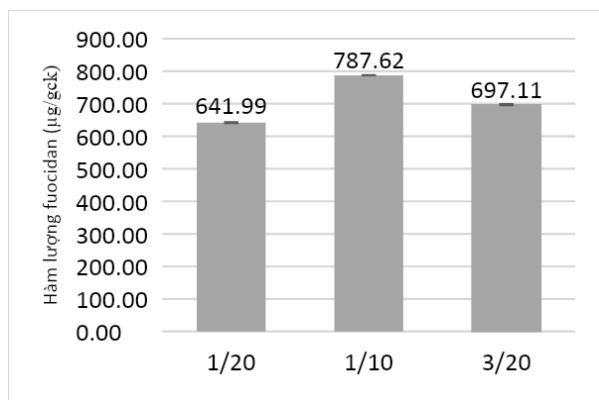
Lượng fucoidan trích ly được khi loại tạp chất bằng hệ 2 (hexan, acetone, cồn 80%, ethanol: nước: formaldehyde) là 568,442 $\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$ cao hơn hệ 1 (methanol: chloroform:

nước) là $422,127\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$. Năm 2016, tác giả Thomas Hahn và cộng sự [8] đã đưa ra quy trình tiền xử lý để loại bỏ các hợp chất tự nhiên khác có trong rong như chlorophyll, mannitol, lipid, polyphenol... bằng các chất bao gồm: Hexan, acetone, cồn 80% và hỗn hợp ethanol: nước: formaldehyde. Trong đó, hexan giúp loại bỏ lipid và các acid béo, acetone loại bỏ các hợp chất màu, ethanol 80% được sử dụng để đẩy mannitol ra khỏi nguyên liệu, hỗn hợp (ethanol, nước, formaldehyde) được sử dụng để trùng hợp polyphenol (thường liên kết chặt chẽ với fucoidan) và ethanol 80% được sử dụng lại để rửa formaldehyd và polyphenol.

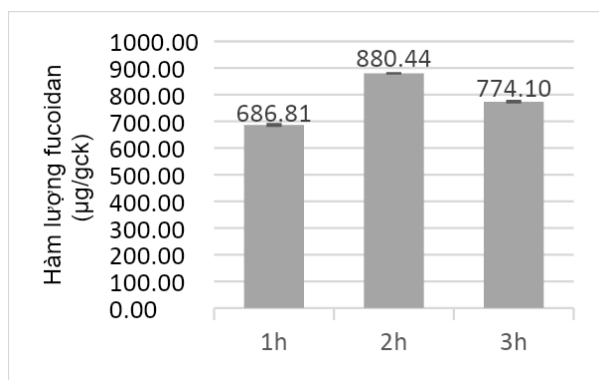
Fucoidan hoà tan tốt trong các dung môi có hằng số điện môi cao (nước, dung dịch có tính kiềm hoặc acid), nên thường sử dụng các dung môi có hằng số điện môi thấp để hạn chế tổn thất fucoidan trong quá trình loại bỏ tạp chất trước trích ly [8, 11]. Các dung môi hexan, acetone, ethanol có hằng số điện môi lần lượt là 1,9; 21; 25 thấp hơn so với methanol (33) và chloroform (4,8) [12]. Vì vậy, hệ 2 được chọn làm dung môi loại tạp chất trước khi trích ly fucoidan trong nghiên cứu này.

3.2. Ảnh hưởng của xử lý enzyme đến quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*

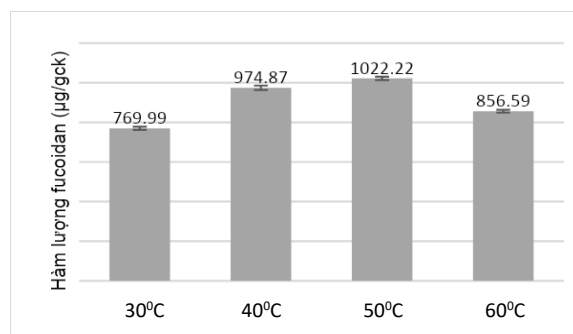
Ảnh hưởng của enzyme đến sự trích ly fucoidan thể hiện ở 3 yếu tố: Tỷ lệ enzyme/ nguyên liệu, ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ đến sự trích ly fucoidan bằng enzyme được thể hiện ở Hình 2, 3, 4.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ enzyme/nguyên liệu đến trích ly fucoidan (40°C , 2h)



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian trích ly fucoidan bằng enzyme (40°C)

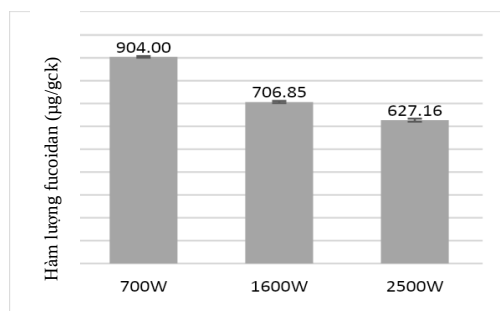


Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$) đến trích ly fucoidan bằng enzyme

Từ Hình 2, 3, 4 cho thấy, điều kiện xử lý enzyme thích hợp để thu nhận fucoidan từ rong *C. submersum*: Tỷ lệ enzyme/ nguyên liệu 1/10 (v/w), thời gian xử lý enzyme 2 giờ, ở nhiệt độ 50°C , thu được fucoidan có hàm lượng $1022,22 \pm 8,68\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$. Phản ứng của enzyme được tạo thành khi trung tâm hoạt động của nó kết hợp với cơ chất. Tùy vào nồng độ enzyme và nồng độ cơ chất mà tốc độ phản ứng của quá trình phân giải diễn ra nhanh hay chậm. Theo Puri và cộng sự, quá trình EAE giúp thành tế bào và màng tế bào bị phá vỡ bởi enzyme, do đó giải phóng các thành phần có hoạt tính sinh học vào môi trường với hiệu quả cao hơn [13]. Enzyme cellulase phá vỡ thành tế bào của rong, tăng sự giải phóng các hoạt chất bên trong. Khi thời gian xúc tác quá dài, cơ chất đã được phân giải đến cực hạn, sản phẩm thu được hầu như không thay đổi. Mỗi một enzyme hoạt động tốt nhất ở nhiệt độ tối ưu nhất định [11]. Cellulase hoạt động tối ưu ở pH 4,5-6,0 và nhiệt độ trong khoảng từ 50°C đến 60°C [9]. Khi nhiệt độ lệch sang hai bên nhiệt độ tối ưu hoạt động của enzyme giảm và tốc độ phản ứng sẽ giảm theo. Sự tăng nhiệt độ làm cho động năng của enzyme và cơ chất tăng, chúng chuyển động nhanh hơn, va chạm nhiều hơn. Các phức chất enzyme – cơ chất hình thành nhiều hơn, phản ứng xảy ra nhanh hơn. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ quá cao, enzyme sẽ bị biến tính. Khi cấu hình vị trí xúc tác không còn phù hợp với cơ chất, enzyme mất hoạt tính xúc tác. Khi nhiệt độ hạ thấp hơn nhiệt độ tối ưu, cơ chất và phân tử enzyme chuyển động chậm. Tần số va chạm giữa chúng thấp dẫn đến ít phức hợp enzyme - cơ chất hình thành và tốc độ phản ứng giảm.

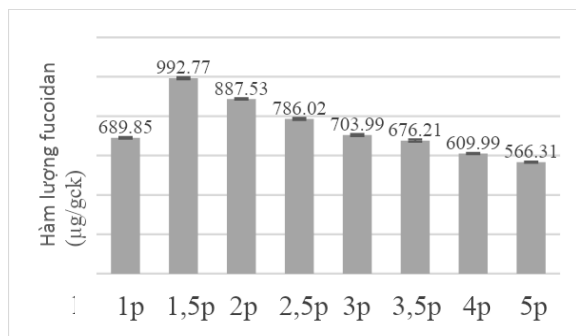
3.3. Ảnh hưởng của xử lý vi sóng đến quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*

Ảnh hưởng của công suất và thời gian xử lý vi sóng được thể hiện ở Hình 5, 6.



Hình 5. Ảnh hưởng của công suất đến hàm lượng fucoidan trích ly bằng vi sóng

Điều kiện xử lý vi sóng thích hợp để thu nhận fucoidan từ rong *C. submersum* công suất vi sóng 700W, thời gian xử lý enzyme 1,5 phút, thu được fucoidan có hàm lượng $992,77 \pm 5,23 \mu\text{g/g}_{\text{ck}}$ (Hình 5, 6). Vi sóng gây ra sự rung động của các phân tử nước trong tế bào. Bởi vì rung động, nhiệt độ của chất lỏng nội bào tăng, nước bay hơi và gây áp lực lên thành tế bào. Khi thành tế bào bị phá vỡ, các chất có trong nội bào được giải phóng [11]. Việc khai thác có sự hỗ trợ vi sóng của fucoidan đã được báo cáo lần đầu tiên bởi Rodriguez-Jasso và cộng sự chứng minh vi sóng có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất trích ly hợp chất mục tiêu: Fucoidan chiếm 18,22% của *F. vesiculosus* khô (áp suất áp dụng là 120 psi trong 1 phút), tương đương với lượng polysaccharide thu được bằng nhiều lần chiết ở 70°C [14]. Cường độ vi sóng càng cao nhiệt độ tỏa ra trong quá trình xử lý càng tăng. Khi nhiệt độ tăng sẽ thúc đẩy các quá trình trích ly diễn ra nhanh hơn, cấu tử fucoidan được trích ra trong dịch trích tốt hơn. Mặt khác, nhiệt độ cao sẽ thúc đẩy các biến đổi hóa học của các thành phần trong nguyên liệu, ảnh hưởng tới chất lượng của fucoidan.



Hình 6. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng fucoidan trích ly bằng vi sóng

Theo A.T. Quitain và cộng sự sử dụng vi sóng có thể thu được fucoidan có trọng lượng phân tử thấp khoảng 13 kDa ở 140°C , trong khi fucoidan thu được ở 110°C có trọng lượng phân tử cao hơn khoảng 240 kDa. Nếu nhiệt độ chiết xuất trên 160°C , không thu được fucoidan mà chỉ có các sản phẩm phân hủy. Thời gian vi sóng càng dài, sản phẩm thu nhận được càng tăng, nhưng khi đạt đến ngưỡng hiệu suất trích ly thì dù tăng thời gian, lượng sản phẩm thu được tăng thêm không đáng kể mà còn tăng khả năng trích ly các hợp chất không mong muốn khác có trong rong. Ngoài ra, cần tiêu tốn thời gian xử lý vi sóng gấp hai lần để có được lượng fucoidan bằng với khi xử lý vi sóng ở nhiệt độ cao hơn 10°C [15]. Như vậy, thời gian thích hợp của quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. submersum* là 1,5 phút.

3.4. Ảnh hưởng của xử lý kết hợp enzyme-vi sóng đến quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. submersum*

Ảnh hưởng của sự kết hợp enzyme - vi sóng đến quá trình trích ly fucoidan từ *C. submersum* được thể hiện trong Bảng 2.

Lượng fucoidan trích ly được trong trường hợp xử lý kết hợp enzyme - vi sóng trước khi loại tạp chất cho kết quả trong khoảng $1397,382 \div 509,239 (\mu\text{g/g}_{\text{ck}})$ cao hơn khi loại tạp trước và xử lý enzyme-vi sóng sau (từ $1355,863 \div 1484,818 \mu\text{g/g}_{\text{ck}}$). Enzyme cellulase xúc tác sự phân hủy cellulose thành glucose, dextrin và các

oligopolysaccharide. Vi sóng gây áp lực lên, phá vỡ thành tế bào giúp giải phóng fucoidan. Như vậy, việc tiến xử lý với enzyme, vi sóng giúp quá trình loại bỏ tạp chất diễn ra mạnh và triệt để hơn.

Bảng 2. Ảnh hưởng của sự kết hợp enzyme-vi sóng

Yếu tố ảnh hưởng	Lượng fucoidan ($\mu\text{g/g}_{\text{ck}}$)
Hệ - Enzyme - Vi sóng	$1355,863^a \pm 3,567$
Hệ - Vi sóng - Enzyme	$1484,818^c \pm 3,403$
Enzyme - Vi sóng - Hệ	$1397,382^b \pm 5,927$
Vi sóng - Enzyme - Hệ	$1509,239^d \pm 4,052$

Kết quả cho thấy, kết hợp vi sóng - enzyme - hệ cho hiệu quả trích ly thu nhận fucoidan cao hơn so với ảnh hưởng đơn yếu tố. Điều này có thể lý giải bởi việc enzyme bị ảnh hưởng rất lớn bởi nhiệt độ. Việc sử dụng vi sóng ở cường độ thấp trong 1,5 phút đưa nhiệt độ của dung môi lên tới 50°C - nhiệt độ tối ưu của enzyme cellulase - tạo điều kiện thích hợp để enzyme hoạt động hiệu quả nhất, làm tăng khả năng trích ly hợp chất fucoidan ra khỏi rong nguyên liệu. Trong khi đó, nếu sử dụng công suất, thời gian vi sóng cao hơn, cấu trúc của enzyme sẽ bị biến đổi khiến khả năng kết hợp với cơ chất (cụ thể là thành tế bào trong trường hợp này) giảm hoặc không còn, từ đó ảnh hưởng trực tiếp lên khả năng thu nhận hợp chất polysaccharide sau quá trình trích ly. Ngoài ra, việc kết hợp này còn đem lại hiệu quả cao do quá trình vi sóng sẽ tạo ra áp lực lên thành tế bào giúp cắt gãy một phần các liên kết, tạo điều kiện cho enzyme dễ dàng phá vỡ cấu trúc cellulose vững chắc của rong cũng như rút ngắn thời gian xử lý mẫu, tối ưu hoá các điều kiện trích ly.

4. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy, ảnh hưởng của các dung môi loại tạp khác nhau trong quá trình trích ly fucoidan thì cho kết quả khác nhau. Ngoài ra còn cho thấy mức độ tác động của enzyme cellulase lên hiệu quả trích ly fucoidan, cũng như ảnh hưởng của yếu tố vi sóng và sự kết hợp enzyme - vi sóng đến quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. Submersum*. Kết quả cho thấy, với từng yếu tố riêng lẻ, việc sử dụng enzyme cellulase sẽ cho hiệu quả trích ly hợp chất ra khỏi rong nguyên liệu cao hơn so với sử dụng vi sóng, nhưng việc sử dụng kết hợp cả 2 yếu tố enzyme và vi sóng cho kết quả cao hơn so với mỗi tác động riêng lẻ lên quá trình trích ly fucoidan từ rong *C. Submersum*

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này do Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 67/HĐ-DCT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.T. Ale, J.D. Mikkelsen, and A.S. Meyer, "Important determinants for fucoidan bioactivity: A critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds", *Marine drugs*, 9(10), 2011, 24(p. 2106-2130).
- [2] J.H. Fitton, "Therapies from fucoidan; multifunctional marine polymers", *Marine drugs*, 9(10), 2011, 29(p. 1731-1760).
- [3] S. Kraan, *Algal polysaccharides, novel applications and outlook in Carbohydrates-comprehensive studies on glycobiology and glycotechnology*, InTech, 2012.

- [4] D. Lou, et al., "Fucoidan protects against dopaminergic neuron death in vivo and in vitro", *European Journal of Pharmacology*, 617 (1-3), 2009, 7(p. 33-40).
- [5] M. I. Bilan, et al., "Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus evanescens*", *C. Ag. Carbohydrate research*, 337(8), 2002, 11(p. 719-730).
- [6] H. Kawamoto, et al., "Effects of fucoidan from Mozuku on human stomach cell lines", *Food science and technology research*, 12(3), 2006, 4(p. 218-222).
- [7] Y. Park, D. Jang, and S. Kim, *Utilization of Marine Products*, Hyongsul Press: Seoul, South Korea, 1997.
- [8] Ahmed Zayed, Kai Muffler, Thomas Hahn, Steffen Rupp, Doris Finkelmeier, Anke Burger-Kentischer and Roland Ulber, "Physicochemical and Biological Characterization of Fucoidan from *Fucus vesiculosus* Purified by Dye Affinity Chromatography", *Mar Drugs*, 14(4), 2016, p. 79.
- [9] H. C. Lakmal, J.-H. Lee, and Y.-J. Jeon, "Enzyme-assisted extraction of a marine algal polysaccharide, fucoidan and bioactivities", *Polysaccharides: Bioactivity and biotechnology*, 2014, 11(p. 1-11).
- [10] Dische and L. B. Shettles, "A specific color reaction of methylpentoses and a spectrophotometric micromethod for their determination", *Journal of Biological Chemistry*, 175(2), 1948, 8(p. 595-603).
- [11] T. Hahn; S. Lang; R. Ulber; K. Muffler, "Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae", *Process Biochem*, 47, 2012, 7(p. 1691-1698).
- [12] James Ashenhurt, "Polar Protic? Polar Aprotic? Nonpolar? All About Solvents", *Master Organic Chemistry*, 2019.
- [13] Puri M, Sharma D, Barrow CJ "Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. Trends Biotechnol", 2012, 30:37-44.
- [14] R. M. Rodriguez-Jasso, S. I. Mussatto, L. Pastrana, C. N. Aguilar, and J. A. Teixeira, "Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed," *Carbohydrate Polymers*, 86, 2011, 7(p. 1137-1144).
- [15] A.T. Quitain, T Kai, M Sasaki, M Goto "Microwave-Hydrothermal Extraction and Degradation of Fucoidan from Supercritical Carbon Dioxide Deoiled *Undaria pinnatifida*", 2013.

(BBT nhận bài: 30/7/2019, hoàn tất thủ tục phản biện: 10/01/2020)