



Một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao chiết từ hạt cau (*Semen Arecae catechi*)

SOME FACTORS AFFECTING THE EXTRACTION EFFICIENCY AND ALKALOID CONTENT OF ARECA SEEDS (*SEMEN ARECAE CATECHI*) EXTRACT

Nguyễn Phương Dung, Vũ Thị Phương Thảo, Trần Văn Thanh

Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

TÓM TẮT

Mục tiêu: Lựa chọn được nồng độ dung môi (Ethanol), nhiệt độ và thời gian chiết phù hợp thu được cao chiết với hiệu suất và hàm lượng alkaloid toàn phần tối ưu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Chiết cao từ hạt cau bằng phương pháp ngâm phân đoạn; Định lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline trong cao chiết bằng phương pháp acid - base theo Dược điển Việt Nam V.

Kết quả: Chiết 3 lần bằng EtOH 60% ở nhiệt độ 60, thời gian 12 giờ cho hiệu suất tối ưu là 64,48%; Hàm lượng alkaloid tính theo arecoline trung bình là 0,4572%.

Kết luận: Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid trong cao khô chiết từ hạt cau chịu ảnh hưởng bởi nồng độ dung môi (Ethanol), nhiệt độ, thời gian và số lần chiết. Chiết 3 lần bằng dung môi ethanol 60%, thời gian 12 giờ, nhiệt độ 60 là điều kiện chiết tối ưu để thu được hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid cao nhất.

Từ khóa: Hạt cau, *Semen Arecae catechi*, arecoline.

SUMMARY

Objectives: To determine the suitable solvent concentration (Ethanol), temperature and time for the highest efficiency and total alkaloid content of Arecae seeds (*Semen Arecae catechi*) extract.

Subjects and methods: The extraction procedure of *Semen Arecae catechi* was conducted using fractional distillation; The total alkaloid content in the extract (arecoline) was weighted using acid - base titration according to Vietnamese Pharmacopoeia V.

Results: 3 times extraction with 60% EtOH at 60°C in 12 hours gave the optimal result with 64.48% extraction efficiency; the average total alkaloid content (arecoline) was 0,4572%.

Conclusions: The extraction efficiency and the total alkaloid content of Arecae seeds (*Semen Arecae catechi*) extract are influenced by solvent concentration (ethanol), temperature, time and the number of extractions. Extracting 3 times with 60% ethanol solvent, in 12 hours, at 60°C is the optimal extraction condition to obtain the highest extract volume and alkaloid content.

Keywords: Areca seeds, *Semen Arecae catechi*, arecoline.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Phương Dung

Số điện thoại: 0914610555

Email: dsphuongdung@mail.com

Mã DOI: <https://doi.org/10.60117/vjmap.v54i01.267>

Ngày nhận bài: 25/09/2023

Ngày phản biện: 29/02/2024

Ngày chấp nhận đăng: 28/05/2024



ĐẶT VẤN ĐỀ

Hạt cau (*Semen Areca catechi*) thường xuất hiện trong các bài thuốc trị giun sán cho người và động vật, làm thuốc giúp tiêu hóa, chữa viêm ruột, lỵ... [1]. Dịch chiết từ hạt cau được nghiên cứu ứng dụng nhuộm vải cho ra màu sắc đa dạng và phong phú [2]. Ngoài ra, hạt cau đang là nguyên liệu tiềm năng trong ngành công nghiệp dược phẩm [3]. Hạt cau chứa hàm lượng lớn tannin, nhiều loại dầu béo. Tuy nhiên, hoạt chất chính có dược tính cao trong hạt cau là các alkaloid, đặc biệt là arecoline được chứng minh có tác dụng kháng khuẩn [1]. Nhưng hiện nay chưa có nhiều công trình nghiên cứu khai thác và ứng dụng để bào chế cao chiết từ hạt cau sử dụng làm nguyên liệu trong sản xuất. Vì vậy, đề tài nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết như nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian chiết để thu được hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid tính theo arecoline cao nhất.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Chất liệu nghiên cứu:

Hạt cau được thu hái tại xã Bình Châu, huyện Bình Sơn, tỉnh Quảng Ngãi vào tháng 10/2022, được rửa sạch, để ráo, phơi khô, bảo quản trong túi nhựa kín khí, trong điều kiện nhiệt độ phòng, ở tủ riêng khô ráo, sạch sẽ và tránh ánh sáng tại phòng thí nghiệm Hóa dược, Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam.

Sau đó hạt cau khô được xay và rây qua rây 355/180 thu được bột nửa mịn (Bột mà không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 355 và không quá 40% qua được rây số 180 [4]).

Dung môi, hóa chất: Ethanol 90% (Việt Nam), Acid chloric (Việt Nam), Ether ethylic (Việt Nam), Amoniac (Xilong- Trung Quốc), Acid sulfuric (Việt Nam), Natri hydroxyd (Xilong- Trung Quốc), Natri bicarbonate (Xilong- Trung Quốc), Lactose (Xilong- Trung Quốc), Bột talc (Liaoning- Trung Quốc).

Thiết bị nghiên cứu:

- Cân phân tích Mettler Toledo 21 XPE 105 độ chính xác 0,0001g.
- Cân xác định độ ẩm Ohaus MB23, độ chính xác 0,01%.

- Máy chuẩn độ điện thế Metrohm - Model 888.
- Máy cô quay chân không IKA RV 3 V - Đức.
- Tủ sấy UNB 400 hãng Memmert - Đức.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Hóa Dược, Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 10/2022 đến tháng 6/2023.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu:

- Nghiên cứu thực nghiệm.
- Chiết xuất cao theo phương pháp ngâm phân đoạn.

Các yếu tố khảo sát gồm:

Dung môi, nhiệt độ, thời gian, số lần chiết. Thực hiện các thí nghiệm đơn biến bằng cách khảo sát một yếu tố và cố định các yếu tố còn lại. Khảo sát dung môi Ethanol 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, cố định chiết ở nhiệt độ phòng, thời gian 12h và 3 lần chiết. Sau khi lựa chọn được dung môi, tiếp tục khảo sát nhiệt độ ở các mức nhiệt độ phòng, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, cố định thời gian chiết 12 và 3 lần chiết. Dựa vào dung môi, nhiệt độ đã được lựa chọn tiếp tục khảo sát thời gian chiết ở 9 giờ, 10 giờ, 11 giờ, 12 giờ, 13 giờ, cố định 3 lần chiết. Cuối cùng lựa chọn được dung môi, nhiệt độ, thời gian chiết sẽ khảo sát số lần chiết là 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần. Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, khối lượng cao thu được bằng trung bình của 3 lần thí nghiệm, hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo khối lượng cao trung bình.

- Tính hiệu suất chiết cao:

$$H (\%) = (m/M) \times 100$$

Trong đó: H: Hiệu suất cao chiết (%), m: khối lượng cao chiết (g), M: khối lượng bột dược liệu (g).

- Định lượng alkaloid toàn phần:

Phương pháp acid - base theo Dược điển Việt Nam V.

- Các bước tiến hành:

- Chiết xuất: Cân 100 g bột hạt cau khô (đã sấy đến độ ẩm 10%) vào cốc thuốc thử (TT). Làm ẩm bằng Ethanol đã được acid hóa bằng HCl 2% đến pH = 2 với lượng 200ml trong 30 phút. Thêm 500ml Ethanol,



ngâm trong 12 giờ rồi rút dịch chiết lần 1. Thêm vào bã dược liệu 600ml Ethanol, ngâm trong 12 giờ rồi rút dịch chiết lần 2. Thêm vào bã dược liệu 500ml Ethanol, ngâm trong 12 giờ rồi rút dịch chiết lần 3. Dồn dịch chiết 3 lần, lọc, trung hòa bằng NaHCO₃ 10% đến pH = 7. Đem cô đặc ở 60 đến khi độ ẩm dưới 20% thu được cao đặc. Thêm 5 g lactose để tạo khối bột ẩm. Sấy tiếp ở 60 đến khi độ ẩm dưới 5% thu được cao khô.

- Định lượng hàm lượng alkaloid toàn phần: Cân chính xác khoảng 8 g cao chiết từ hạt cau vào bình nón nút mài 250ml, thêm 80ml ether ethylic (TT) và 4 ml amoniac đậm đặc (TT), lắc trong 10 phút. Thêm 10g natri sulfat khan (TT) lắc trong 5 phút, để yên. Gạn lấy lớp ether, rửa cân bằng ether ethylic (TT) 3 lần, mỗi lần 10ml. Gộp các dịch chiết ether vào bình gạn, lắc với 0,5g bột talc (TT) trong 3 phút, thêm 2,5ml nước, lắc trong 3 phút. Để lắng, gạn lấy lớp ether trong ở phía trên, rửa lớp nước bằng 5ml ether ethylic (TT). Gộp các dịch chiết ether vào một cốc có mỏ, để bay hơi tự nhiên đến khi còn khoảng 15ml, chuyển vào bình gạn. Tráng cốc bằng ether ethylic (TT) 2 lần, mỗi lần 5ml. Gộp dịch rửa ether vào bình gạn trên. Thêm chính xác 20ml dung dịch acid sulfuric 0,02N (CĐ) vào bình gạn, lắc kỹ. Để lắng, gạn lớp acid. Rửa lớp ether 3 lần bằng nước, mỗi lần 5ml. Gộp nước rửa với lớp acid, lọc. Rửa giấy lọc và phễu lọc bằng nước 4 lần, mỗi lần 10ml, tập trung nước rửa vào dịch lọc. Thêm 3 – 4 giọt dung dịch đỏ methyl (TT), định lượng bằng dung dịch natri hydroxyd 0,02N (CĐ) đến khi chuyển sang màu vàng. Hàm lượng phần trăm alkaloid toàn phần (X) tính theo arecoline của dược liệu được tính theo công thức sau:

$$\text{Trong đó: } X\% = \frac{(20-n) \cdot 31,04}{m \cdot (100-a)}$$

- n: Thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,02N (CĐ) đã dùng để chuẩn độ (ml);
- m: Khối lượng mẫu thử (g);
- a: Độ ẩm của cao chiết (%).

Tiêu chuẩn đánh giá: Lựa chọn dựa trên hiệu suất chiết cao và hàm lượng alkaloid toàn phần qua các chỉ tiêu khảo sát khác nhau.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Số liệu thu thập xử lý và phân tích bằng phần mềm Microsoft excel 2019, sử dụng thống kê mô tả (Hiệu suất chiết (%); Hàm lượng alkaloid (%).

Đạo đức trong nghiên cứu

Tuân thủ theo các tiêu chuẩn đạo đức trong nghiên cứu y sinh.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Ảnh hưởng của nồng độ dung môi (Ethanol) đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid

Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline trong cao là giá trị trung bình sau 3 lần thực hiện như sau:

Bảng 1. Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline ở các nồng độ dung môi

Dung môi	Hiệu suất chiết (%) (n̄)	Hàm lượng alkaloid (%)
Ethanol 50%	37,25	0,213
Ethanol 60%	41,65	0,334
Ethanol 70%	46,13	0,288
Ethanol 80%	38,50	0,428
Ethanol 90%	29,96	0,467

Chiết với dung môi Ethanol 70% thu được hiệu suất chiết lớn nhất nhưng hàm lượng alkaloid tính theo arecoline thấp chỉ đạt 0,288%, với Ethanol 90% thì thu được hàm lượng alkaloid tính theo arecoline lớn nhất, nhưng hiệu suất chiết lại thấp nhất đạt 29,96%. Chiết bằng Ethanol 60% thu được sản phẩm cân đối cả về hiệu suất chiết cao và hàm lượng alkaloid tính theo arecoline, đồng thời hạn chế cháy nổ và tiết kiệm chi phí hơn. Vì vậy, đề tài lựa chọn dung môi chiết là Ethanol 60% cho các nghiên cứu tiếp theo.

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid

Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid tính theo arecoline trong cao là giá trị trung bình sau 3 lần thực hiện như sau:

Bảng 2. Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline ở các nhiệt độ

Nhiệt độ	Hiệu suất chiết (%) (n̄)	Hàm lượng alkaloid (%)
Nhiệt độ phòng	41,65	0,334
40°C	59,63	0,3768
50°C	57,33	0,3779
60°C	64,48	0,4572
70°C	55,12	0,3211
80°C	31,82	0,3261



Khi chiết bằng dung môi ethanol 60% trong 12 giờ, nhiệt độ chiết là 60°C cho hiệu suất chiết là 64,48% và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline trong cao là 0,4572% lớn nhất so với chiết ở các nhiệt độ khảo sát khác. Do đó, lựa chọn nhiệt độ chiết là 60°C cho các khảo sát tiếp theo.

Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid

Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid trong cao là giá trị trung bình sau 3 lần thực hiện như sau:

Bảng 3. Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline ở các thời gian (n=3)

Thời gian	Hiệu suất chiết (%) (\bar{n})	Hàm lượng alkaloid (%)
9 giờ	35,73	0,3876
10 giờ	39,20	0,3704
11 giờ	39,98	0,4030
12 giờ	64,48	0,4572
13 giờ	64,35	0,4515

Khi chiết bằng dung môi Ethanol 60% ở nhiệt độ 60°C, thời gian chiết 12 giờ cho hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao lớn nhất (64,48% và 0,4572%). Do đó, lựa chọn thời gian chiết là 12 giờ.

Ảnh hưởng của số lần chiết đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid

Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid trong cao là giá trị trung bình sau 3 lần thực hiện như sau:

Bảng 4. Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline ở số lần chiết khác nhau (n=3)

Số lần chiết	Hiệu suất chiết (%) (\bar{n})	Hàm lượng alkaloid (%)
1	27,84	0,3574
2	52,48	0,4142
3	64,48	0,4572
4	64,59	0,4401

Khi chiết 3 lần, hiệu suất chiết thu được lớn nhất (64,48%) và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline trong cao khô cũng lớn nhất (0,4572%). Khi chiết 1 lần và 2 lần, cả hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid TP đều thấp hơn. Khi chiết 4 lần, hiệu suất chiết đạt 64,59% và hàm lượng alkaloid TP thu được là 0,4401% gần tương đương như khi chiết 3 lần.

BÀN LUẬN

Ảnh hưởng của nồng độ dung môi (Ethanol) đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid trong cao

Khảo sát các nồng độ EtOH là 50%, 60%, 70%, 80% và 90% cho thấy khi tăng nồng độ cồn, hàm lượng alkaloid TP thu được có xu hướng giảm ở nồng độ 70% nhưng lại tăng ở nồng độ 80% đến 90%, hiệu suất chiết lại tăng dần ở nồng độ 60% đến 70% nhưng lại có xu hướng giảm ở nồng độ 80% đến 90%. Nguyên nhân có thể do ở nồng độ 70% chiết được nhiều tạp chất khiến hiệu suất chiết tăng nhưng hàm lượng alkaloid toàn phần giảm. Mặt khác, EtOH 80% và 90% dễ gây cháy nổ trong quá trình chiết xuất. Do vậy dung môi là EtOH 60% là lựa chọn phù hợp.

Nguyễn Hữu Thịnh (2010) [5] áp dụng kỹ thuật chiết lỏng - lỏng với hệ dung môi DCM: EA (tỷ lệ 5 : 1); Bùi Ngọc Phương Châu (2010) [6] đã lựa chọn chiết bằng Soxhlet với dung môi Chloroform (CHCl₃); Chutima Jantararat (2013) [7] cũng lựa chọn chiết bằng Soxhlet với dung môi Dicloromethan (CH₂Cl₂). Tuy nhiên, Chloroform và Dicloromethan đều là chất độc, giá thành cao, các tác giả sử dụng với mục đích chính là thu được sản phẩm chiết trong quy mô phòng thí nghiệm và định danh thành phần hóa học có trong sản phẩm. Nghiên cứu chúng tôi chiết bằng phương pháp ngâm phân đoạn với dung môi là Ethanol (EtOH) hòa tan tốt alkaloid, dễ kiểm, rẻ tiền hơn, an toàn hơn với môi trường và sức khỏe, phù hợp khi chiết xuất với quy mô lớn, phục vụ cho nhu cầu sản xuất dược phẩm, thực phẩm.

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao

Khảo sát nhiệt độ chiết là nhiệt độ phòng, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C và 80°C cho thấy hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline trong cao có xu hướng tăng khi tăng nhiệt độ chiết từ nhiệt độ phòng đến 60°C, ở nhiệt độ 70°C và 80°C, hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần có xu hướng giảm. Nguyên nhân có thể do ở nhiệt độ 70°C và 80°C dung môi bay hơi nhanh nên thu được ít cao chiết, đồng thời tăng quá trình hoà tan của một số tạp chất khác có trong hạt cau khiến hàm lượng alkaloid thu được không cao. Để đảm bảo an toàn khi dùng dung môi là EtOH và đảm bảo



hiệu suất chiết cao, nhiệt độ chiết là 60°C được lựa chọn.

Chutima Jantararat (2013) lựa chọn nhiệt độ chiết là 45°C, thời gian là 6 giờ thu được hàm lượng arecoline trong bột hạt cau xanh và bột hạt cau đã chín lần lượt là $0,1434 \pm 0,0016\%$ và $0,0944 \pm 0,0002\%$. Kết quả này thấp hơn nhiều so với kết quả khảo sát nhiệt độ chiết xuất trong 12 giờ của đề tài. Nguyên nhân có thể do khi chiết ở nhiệt độ 45°C trong 6 giờ, các quá trình trong chiết xuất như: quá trình khuếch tán, quá trình thẩm thấu, quá trình thẩm tích diễn ra chưa triệt để. Tuy nhiên, mục đích chính trong nghiên cứu của Chutima Jantararat khi thực hiện là chứng minh phương pháp sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao HPLC có thể xác định được lượng arecoline trong sản phẩm chiết từ hạt cau. Trong khi đó, đề tài này được thực hiện nhằm mục đích xác định điều kiện tối ưu nhất để chiết cao giàu alkaloid từ hạt cau [7].

Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid trong cao

Khảo sát thời gian chiết là 9 giờ, 10 giờ, 11 giờ, 12 giờ và 13 giờ cho thấy: Khi tăng thời gian chiết từ 9 giờ đến 12 giờ, hiệu suất chiết và hàm lượng arecoline có xu hướng tăng do các quá trình xảy ra trong chiết xuất được liệu như quá trình khuếch tán, quá trình thẩm thấu, quá trình thẩm tích tăng. Thời gian chiết là 12 giờ và 13 giờ cho hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid chênh lệch nhau không đáng kể. Chiết trong 13 giờ gây tổn kém nguyên liệu, nhiên liệu và công sức hơn 12 giờ. Do đó, thời gian chiết là 12 giờ được lựa chọn.

Theo Bùi Ngọc Phương Châu [6], khảo sát thời gian chiết là 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ và 14 giờ thu được kết quả như sau: với 20 g bột hạt cau, thời gian chiết là 12 giờ thu được khối lượng sản phẩm chiết lớn nhất 0,0808 g. Nghiên cứu này sử dụng 100 g bột hạt cau, thời gian chiết là 12 giờ thu được hiệu suất chiết là 64,48% (tương đương 64,48g cao chiết). Như vậy, lựa chọn thời gian chiết là 12 giờ là có tính khả thi và phương pháp chiết thu được khối lượng sản phẩm lớn hơn nhiều so với phương pháp chiết trong nghiên cứu trước đó của Bùi Ngọc Phương Châu.

Ảnh hưởng của số lần chiết đến hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid

Khảo sát số lần chiết là 1 lần, 2 lần, 3 lần và 4 lần cho thấy: Hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid toàn phần tính theo arecoline có xu hướng tăng khi tăng

số lần chiết từ 1 lần đến 3 lần. Số lần chiết là 3 lần và 4 lần cho khối lượng cao và hàm lượng alkaloid TP chênh lệch không đáng kể. Tuy nhiên, chiết 4 lần làm tăng chi phí mà hiệu quả không tương xứng nên việc lựa chọn chiết được liệu 3 lần có tính khả thi hơn.

KẾT LUẬN

Hiệu suất chiết và hàm lượng arecoline trong cao chiết từ hạt cau chịu ảnh hưởng bởi một số yếu tố, trong đó có nồng độ dung môi, nhiệt độ, thời gian và số lần chiết. Chiết 3 lần bằng dung môi Ethanol 60% với nhiệt độ chiết 60 trong 12 giờ là điều kiện chiết tối ưu để thu được hiệu suất chiết và hàm lượng alkaloid tính theo arecoline cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đỗ Tất Lợi.** *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà Xuất bản Y học, 2006, tr:172-174
2. **Trương Ngọc Thạch và Lê Tự Hải.** *Nghiên cứu nhuộm vải tổng hợp (50% tơ tằm + 50% polyeste) bằng chất màu chiết tách từ nụ hoa hòe và hạt cau*, Luận văn Thạc sĩ Hóa học, Trường Đại học Sư Phạm, Đại học Đà Nẵng, 2022, tr. 51.
3. **Amudhan, Hazeena Begum, B. Hebbar.** A review on phytochemical and pharmacological potential of *Areca catechu* L. seed. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 2012, 3(11), pp. 4151-4157.
4. **Bộ Y tế.** *Dược điển Việt Nam V*, 2018, tập 2, Nhà xuất bản Y học.
5. **Nguyễn Hữu Thịnh.** *Khảo sát thành phần hóa học của hạt cau *Areca catechu* L.*, Luận văn tốt nghiệp đại học, Đại học Cần Thơ, 2010, tr. 48-52.
6. **Bùi Ngọc Phương Châu, Đào Hùng Cường, và Hoàng Kế Chung.** Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hợp chất hóa học trong hạt và rễ cây rau. *Tuyển tập Báo cáo Hội nghị Sinh viên Nghiên cứu Khoa học lần thứ 7 Đại học Đà Nẵng*, 2010, tr.464-468.
7. **Chutima Jantararat, Pornpak Sirathanarun, Wilaihong Songserm et al.** A Simple and Rapid HPLC Technique for Determination of Arecoline in Areca Nut (*Areca catechu* L.) Extract. *Walailak J Sci & Tech*, 2013, 10(1), pp.57-66